

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1977 - N° 138

**ETUDE DE FRACTIONS D'HUILES VEGETALES
RICHES EN ELEMENTS NON GLYCERIDIQUES
EN VUE DE LEUR APPLICATION
EN DERMOCOSMETOLOGIE
EVALUATION EXPERIMENTALE
DE L'ELASTICITE CUTANEE**

THESE

présentée à l'Université Claude-Bernard
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 18 Juillet 1977
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'ETAT EN PHARMACIE

par

Mademoiselle KHELLAF Fouzia
née le 3 Septembre 1948
à ALGER

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1977 - N° 133

ÉTUDE DE FRACTIONS D'HUILES VÉGÉTALES
EN ÉLÉMENTS NON GLYCÉRIDIQUES

ET DE LEUR APPLICATION
EN PHARMACOLOGIE
ÉVALUATION EXPÉRIMENTALE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSE

présentée à l'Université Claude-Bernard

Unité d'Enseignement et de Recherche

des Sciences Pharmaceutiques

pour l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

par Monsieur le Docteur en Pharmacie

M. D'ESTAT-EN-PHARMACIE

par

Mademoiselle KHELLAF Fouzia

Née le 3 Septembre 1955

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1977 - N° 138

**ETUDE DE FRACTIONS D'HUILES VEGETALES
RICHES EN ELEMENTS NON GLYCERIDIQUES
EN VUE DE LEUR APPLICATION
EN DERMOCOSMETOLOGIE
EVALUATION EXPERIMENTALE
DE L'ELASTICITE CUTANEE**



THESE

présentée à l'Université Claude-Bernard
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 18 Juillet 1977
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'ETAT EN PHARMACIE

par

Mademoiselle KHELLAF Fouzia

née le 3 Septembre 1948

à ALGER

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I
UNITÉ D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1977 - N° 133

ETUDE DE FRACTIONS D'HUILES VÉGÉTALES
RICHES EN ÉLÉMENTS NON GLYCÉRIDiques
EN VUE DE LEUR APPLICATION
EN DERMOCOSMÉTOLOGIE
ÉVALUATION EXPÉRIMENTALE
DE L'ÉLASTICITÉ CUTANÉE



présentée à l'Université Claude-Bernard
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences Pharmaceutiques
et soutenue publiquement le 15 Juillet 1977
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'ÉTAT EN PHARMACIE

Mademoiselle KHELAR FOUAD
née le 3 Septembre 1942
à ALGER

— UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I —

Président de l'Université	M. le Professeur D. GERMAIN
Vice Président	M. le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice Président	M. B. ROUSSET
Troisième Vice Président	M. R. LOPEZ
Secrétaire Général	M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE :

Médecine : GRANGE BLANCHE	M. le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS CARREL	M. le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST	M. le Professeur J. NORMAND
LYON NORD	Directeur : M. le Docteur J.P. NEIDHARDT
	Directeur honoraire : M. le Professeur A. BERTOYE
Biologie Humaine	M. le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)
Techniques de Réadaptation	M. le Docteur A. MORGON (MCA)
Sciences Pharmaceutiques	M. le Professeur BIZOLLON
Sciences Odontologiques	M. le Docteur R. VINCENT
Institut régional d'éducation physique et sportive ..	Président du conseil d'UER : M. le Professeur
	R. GUILLET,
	Directeur M. A. MILLON
Mathématiques.....	M. le Professeur E. COMBET
Physique	M. le Professeur J. DELMAU
Chimie et Biochimie	M. le Professeur J. HUET
Sciences de la Nature	M. le Professeur R. GINET
Sciences Physiologiques	Mlle le Professeur J.F. WORBE
Institut Universitaire et Technologie n°1	M. le Professeur B. POUYET
Institut Universitaire et Technologie n°2	M. J. GALLET (Directeur ENSAM)
Observatoire	M. M. MONNET (Astronome Adjoint)
Physique Nucléaire	M. le Professeur GUSAKOW
Mécanique	Mlle le Professeur G. COMPTE-BELLOT.



A MES PARENTS,

en témoignage de ma profonde affection.

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président : Monsieur le Professeur Jean COTTE.

Assesseurs : Monsieur le Professeur H. THIERS
Monsieur le Professeur M. ROLLET
Monsieur le Professeur G. VALLET
Monsieur R. DENINE
Madame M.C. MARTINI

A MES PARENTS,

en témoignage de ma profonde affection.

A TOUS CEUX QUI NOUS SONT CHERS.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,

Monsieur le Professeur Jean COTTE

Comment peut-on remercier le Maître de ce travail par quelques mots qui se veulent alors témoignages de reconnaissance et d'admiration.

Il est impossible par quelques lignes de remerciements de s'acquitter de la dette contractée envers son Professeur pour l'activité intense qu'il a déployée pour nous, les connaissances immenses, la générosité, la bonté et l'amitié qu'il a constamment mis à notre disposition durant cinq années.

L'honneur qu'il nous fait aujourd'hui de présider au jugement de cette thèse, nous permet de lui exprimer notre très respectueux et profond attachement.

Qu'il nous permette d'espérer que ce travail contribue à une collaboration longue et fructueuse entre la Faculté de Pharmacie de Lyon et la Faculté de Pharmacie d'Alger.

* * *

A NOS JUGES.

Monsieur le Professeur H. THIERS

Il a inspiré ce travail et nous a fait profiter de son immense expérience.

Nous sommes très heureuse de lui exprimer notre profonde gratitude.

Le compter parmi nos Juges est un grand honneur. Nous le prions de trouver ici le témoignage de notre respectueuse admiration.

Monsieur le Professeur M. ROLLET

Il nous a accueilli lors de notre arrivée à la Faculté de Pharmacie de Lyon, voilà cinq ans.

Nous avons été séduite par son enseignement clair, son inépuisable patience, sa haute conscience professionnelle et ses grandes qualités humaines.

Nous le remercions de la bienveillance qu'il a toujours montré à notre égard.

Qu'il veuille bien croire à l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

Monsieur le Professeur G. VALLET

Il nous a accueillie au CENTRE TECHNIQUE DU CUIR de LYON où nous avons pu bénéficier de toute l'aide et du grand savoir de ses chercheurs.

Nous lui en sommes profondément reconnaissante, et tenons à le remercier, en particulier, du grand honneur qu'il nous fait de juger ce travail.

Monsieur R. DENINE

Nous le remercions vivement de siéger au sein de notre Jury et le prions de croire à notre profond respect.

Qu'il soit assuré que nous considérons comme un privilège de travailler à ses côtés, au Laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté d'Alger.

Madame M.C. MARTINI

Nous ne saurions en quelques mots lui exprimer notre reconnaissance pour avoir toujours trouvé en elle une conseillère attentive.

Que ce travail qu'elle a suivi et guidé lui apporte l'expression de notre profonde gratitude et l'assurance de notre attachement.

Le travail que nous exposons est un travail d'équipe et nous désirons remercier :

- le Laboratoire de Botanique de la Faculté de Pharmacie de LYON,
- les Etablissements GATTEFOSSE,
- le Centre Européen de Dermopharmacie,
- le Centre Technique du Cuir de LYON,
- la Pharmacie Centrale de LYON.

et plus particulièrement :

Monsieur le Professeur G. NETIEN

Nous lui devons d'avoir pu réaliser une partie de notre travail au sein de son équipe.

Nous l'en remercions vivement.

Monsieur M. GATTEFOSSE.

Il nous a fait l'honneur et la gentillesse de nous accueillir dans ses Etablissements.

Nous l'assurons, ainsi que Monsieur B. GLAS et Madame G. CALMET, de nos sincères remerciements.

Monsieur D. HERBAGE,

Il nous a volontiers documenté et orienté dans notre travail sur l'Elasticité Cutanée.

Nous avons toujours trouvé auprès de lui, grâce à sa rigueur scientifique, à son esprit critique et à sa disponibilité, l'occasion de débats fructueux.

Qu'il accepte ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Monsieur J.P. BOULANGER,

Il nous a initié aux méthodes rhéologiques.

La précision de son raisonnement, le souci de perfection et d'efficacité qui l'animent nous ont beaucoup aidé dans ce travail.

Qu'il soit assuré de toute notre reconnaissance.

Monsieur M. BERNARD

C'est toujours avec le sourire qu'il nous a fait profiter de ses nombreuses connaissances.

Nous avons pu apprécier le fruit de ses recherches et ses profondes qualités humaines.

Nous l'assurons, ainsi que Mademoiselle SANCHEZ et Monsieur HUBERT, de notre sympathie et de nos vifs remerciements.

Monsieur A. HUC

Nous lui devons l'étude expérimentale aux rayons X.

Nous avons pu bénéficier de sa haute compétence, de son dynamisme et de son esprit de collaboration dans le travail.

Qu'il trouve ici l'expression de toute notre gratitude.

*Nous adressons également nos très vifs remerciements à
Monsieur FERRY de la Pharmacie Centrale de Lyon.*

*Nous voulons remercier de leur aide et de leur amabilité Madame MOTIN,
Madame QUERIO, Madame GUIGO, Messieurs CHABRAND, BONNY et
PRONIER, du Centre Technique du Cuir.*

*Nous remercions Monsieur J. EECKMAN dont la bonté et la compréhension
nous ont été d'un grand réconfort durant ce travail.*

Qu'il soit assuré de notre respectueuse reconnaissance.

*Que tous nos camarades de Faculté et nos collaborateurs trouvent
ici l'expression de notre fidèle amitié.*

** * **

I N T R O D U C T I O N

“L’étude de fractions d’huiles végétales riches en éléments non glycéridiques en vue de leur application en dermocosmétologie” nous a été proposée dans le cadre de nos études spécialisées en galénique et en cosmétologie.

Partant de sous-produits de l’industrie huilière, l’objet de notre travail est de formuler une base cosmétique acceptable sans avoir recours à des traitements sophistiqués et onéreux.

Ces sous-produits de l’industrie huilière, appelés “échappées de désodorisation des huiles” ont une valeur marchande nulle, or ils sont intéressants par leur teneur élevée en constituants non-glycéridiques formant les insaponifiables (notamment stérols et tocophérols).

En effet, au cours des différentes étapes du raffinage de l’huile, ces constituants sont éliminés dans les échappées de désodorisation alors concentrées.

Ces insaponifiables se retrouvent intacts dans chaque résidu de raffinage.

Il était donc intéressant d’envisager leur récupération par une opération simple, en vue de leur valorisation ultérieure

Cette valorisation peut être envisagée dans trois directions différentes :

- soit l’obtention, par extraction, des insaponifiables purs ou de constituants purs (“fine chemicals”).
- soit l’obtention d’un produit intermédiaire, plus élaboré, par traitement chimique des échappées : par exemple, l’hydrogénation pourrait donner un produit moins odorant et présentant des caractéristiques plus acceptables (24).
- soit l’utilisation de ces produits en l’état, après mise en forme adaptée et standardisée d’une base pour la fabrication de produits dermocosmétiques : matière grasse auto-émulsionnable et titrée en insaponifiables, d’une valeur marchande plus proche de celle d’un excipient ordinaire que de celle d’un insaponifiable pur.

C’est cette dernière direction que nous avons retenu car la possibilité de mettre au point une base qui soit un “excipient actif” nous a semblé très valable.

Cependant, l’utilisation de ces sous-produits soulève de nombreux problèmes au niveau :

- de leurs caractères organoleptiques : aspect, couleur, odeur, goût.
- de leur composition peu précise et non suivie,
- de leur stabilité dans le temps, incertaine,
- de leur compatibilité avec d’autres excipients en vue de leur formulation cosmétique.

Mais la concentration en insaponifiables et l'autoémulsionnabilité des échappées de désodorisation confèrent à ces sous-produits des caractéristiques dermocosmétiques tout à fait positives.

En effet, les phytostérols contenus dans l'insaponifiable des huiles végétales sont considérés comme des substituants suffisamment équivalents et plus économiques que le cholestérol, aussi bien en cosmétologie qu'en dermatologie (53 - 54). Or, les phytostérols sont fréquemment utilisés pour leur pouvoir émulsifiant et possèdent l'avantage d'être indifférents aux amples variations de pH, c'est à dire qu'ils conservent leur propriété tensio-active malgré un environnement nettement acide ou franchement alcalin (22).

En outre, ils facilitent la pénétration des substances auxquelles ils sont associés (2 - 72).

Et surtout, les insaponifiables sont utilisés dans de faibles proportions en vue de conférer à certaines préparations dermatologiques ou cosmétologiques, un effet adoucissant, assouplissant et anti-kératinisant (97).

Dans une première partie nous rappellerons l'intérêt en dermocosmétologie des insaponifiables et leur origine, leur nature, leur composition.

La deuxième partie sera consacrée aux travaux effectués sur les échappées de désodorisation des huiles de Soja, Maïs et Arachide, au double point de vue analytique et technologique.

Enfin, la dernière partie de ce travail aura pour objet l'étude de la tolérance cutanée et la mesure de l'activité sur la peau des échappées de désodorisation et des insaponifiables. Pour ce dernier point, nous avons été obligé de développer une méthodologie originale par application des mesures rhéologiques au comportement biomécanique de la peau.

Nous tenterons de rapprocher les résultats obtenus, d'une part par cette méthode, et d'autre part, par des études de diffraction aux rayons X .



PREMIERE PARTIE



LES INSAPONIFIABLES

I – LES INSAPONIFIABLES EN DERMOCOSMETOLOGIE

Depuis quelques temps, on constate une remise à l'honneur des végétaux en thérapeutique comme en cosmétologie (20) (21) (36). L'intérêt que l'on porte aux insaponifiables n'est pas nouveau. En effet, depuis la découverte en 1907 par KLOBB et BOCH "d'une fraction solide de l'insaponifiable comme un mélange de stérols végétaux", les chimistes, les biologistes, ainsi que les thérapeutes et les cosmétologues se penchent sur cet ensemble complexe et mystérieux qu'est l'insaponifiable.

Les progrès réalisés dans les techniques d'extraction et d'analyse ont levé une part des incertitudes qui pèsent sur ces insaponifiables et certaines activités constatées sur le plan chimique provoquent et maintiennent toujours un enthousiasme certain.

1. Les travaux cliniques.

En 1951, des chercheurs américains (96) mettent en évidence un facteur assouplissant essentiel pour le cobaye (ANTISTIFFNESS FACTOR ESSENTIAL FOR GUINEA PIG). Carencé, cet animal souffre d'un raidissement progressif lié à des foyers dégénératifs musculo-tendineux que compliquent secondairement, de façon contingente, et à la condition d'une survie de durée suffisante, de très spectaculaires incrustations phosphocalciques éparses dans le tissu cellulaire sous-cutanée, les muscles périphériques et certains viscères (aorte - estomac - intestin). "L'antistiffness factor essential for Guinea-pig" fut alors mis en évidence et sa nature chimique fut précisée : il s'agissait d'un composant de l'insaponifiable : le STIGMASTEROL. L'intérêt médical du Stigmasterol fut étudié pour la première fois en France par le Professeur THIERS. Depuis ses premières expérimentations qui datent de 1952, THIERS a constamment affirmé l'intérêt biologique et médical des insaponifiables, justifié par des résultats en thérapeutique humaine et par l'absence totale de nocivité de ces produits.

Pour souligner le caractère polyvalent de leur activité et justifier l'intérêt qui leur est porté, il est nécessaire de présenter quelques observations cliniques rapportées dans la littérature.

1.1. Action eutrophique locale (31 - 95 - 96).

- "La peau sénile comporte souvent l'apparition de lésions dyskératosiques, petites et localisées pour lesquelles on hésite entre une atteinte bénigne ou une lésion en voie de dégénérescence. Si on veut épargner au malade une biopsie-exérèse, un traitement de 15 jours à l'insaponifiable vérifie vite et facilement une impression de bénignité".

Les lésions plus importantes et les verrues séborrhéïques résistent à l'insaponifiable

- "La Blépharite chronique avec ses lésions palpébrales infectieuses et récidivantes et son intolérance rapide aux traitements locaux est souvent remarquablement améliorée par la pommade à l'huile de palme. Cependant, il est souvent nécessaire de lui associer un traitement par voie orale".

— “Les Radiodermes de date ancienne avec leur atrophie superficielle, leur télangiectasie, l’induration sous-cutanée scléreuse, peuvent être traitées avec succès par applications locales d’insaponifiables”.

Les radiodermes sont la conséquence d’une radiothérapie intensive. En traitement local, les insaponifiables atténuent ou éliminent le prurit et la douleur. Ils font régresser les dyskératoses non dégénérées et favorisent la cicatrisation des ulcérations spontanées.

“Lorsqu’il existe une ulcération superficielle ou une dyskératose suspecte, l’échec du traitement est malheureusement un signe de dégénérescence maligne, Quand la sclérose sous-cutanée est l’élément symptomatique le plus important, l’action locale de l’insaponifiable doit être complétée par la chelation” (96).

— “Les dystrophies du gland avec leucokératose et rétrécissement de l’orifice préputial, quelle que soit l’étiologie, peuvent être améliorées par les insaponifiables, après liquidation des infections microbiennes ou mycosiques. Les pommades à base d’insaponifiables ont une activité et une tolérance qui surclassent celles des produits à base d’axerophthol naturel ou de synthèse” (96).

— “Les atrophies vulvaires avec prurit, avec ou sans leucokératose, comportent une thérapeutique à la fois locale et générale exigeant de faire appel en vue d’une synergie efficace aux vitamines (Tocophérol - Retinol) en même temps qu’aux hormones génitales. A partir du moment où existent des troubles trophiques, on a intérêt à remplacer systématiquement la vitamine A par l’insaponifiable de palme. C’est la comparaison des effets de l’un et l’autre qui fournit l’argument le plus convaincant de la supériorité de l’action trophique de l’insaponifiable” (96).

— “Les hypodermes en nappes, spécialement de jambes variqueuses, sont atténuées par les insaponifiables (Soja et Avocat) utilisés en massage et par voie orale, Il s’agit d’une réaction inflammatoire chronique, scléreuse, à peu près toujours infectieuse” (95).

— la main de la ménagère, légèrement irritée, érythémateuse, un peu squameuse, finement crevassée ou non, prurigineuse, retire un bénéfice certain de diverses insaponifiables (olive - soja - avocat). (4) (95).

Il en est de même pour les shampooingneuses.

— “Il existe une série de petits états ichtyosiques atténués que le public qualifie de “peaux sèches” alors qu’il s’agit de “peaux rêches” c’est à dire rudes au toucher. Cet état cutané, succès éphémère des crèmes hydratantes est méconnu en pathologie : atténué il échappe au généraliste qui le néglige, comme au dermatologue qui ne connaît que les grandes ichtyoses rendant monstrueux le sujet qu’elles frappent. Cet état ichtyosique s’accompagne d’un état pelliculaire discret, atténué l’été, aggravé l’hiver, amélioré par les insaponifiables” (31 - 96).

— Les insaponifiables ont également un effet sur les photo sensibilisations.

Riches en caroténoïdes, ils seraient de bons photoprotecteurs, minimisant le coup de soleil sans réduire la pigmentation. Il ne s’agit pas, d’après THIERS, d’un effet écran, mais d’une protection des lysosomes et du chondriome des cellules de Malpighi comparable à celle

que réalisent les caroténoïdes vis à vis du chloroplaste dans la cellule végétale (47) (104).

– les insaponifiables ont en outre un effet protecteur sur les muqueuses. Il y aurait donc lieu d'envisager l'incorporation des insaponifiables dans les cosmétiques labiaux. En effet, sur la lèvre inférieure, il peut siéger une dyskératose consécutive par exemple à la cigarette ou à l'application d'un rouge à lèvres de qualité inférieure.

“Dans ce cas, un totum d'insaponifiables de Soja et d'Avocat, amène une régression au bout de deux semaines. L'efficacité est d'une telle régularité qu'un échec peut laisser soupçonner la malignité de la lésion“ (95).

● Par ailleurs, des essais réalisés en clinique humaine par plusieurs dermatologues (26) portèrent sur quelques centaines de sujets à peau saine ou malade se décomposant comme suit :

- 60 % de peaux normales ou subnormales.
- 20 % de peaux pathologiques par agression
- 20 % de peaux pathologiques par nature.

Ces essais se sont étendus sur une période pouvant atteindre trois ans suivant les expérimentateurs.

– les peaux pathologiques par agression sont des peaux présentant des dermites allergiques acquises, professionnelles et des dermites fissuraires.

Les cliniciens ont constaté, chez 80 % des sujets, une action favorable se manifestant par un effet sédatif sur la dessication douloureuse, par un effet émollient, adoucissant, assouplissant, et eutrophique au niveau de la lésion.

– les peaux pathologiques par nature représentent les eczémas constitutionnels, les acnées rosacées et les ichtyoses. Les cliniciens ont alors constaté de très bons résultats dans 20 % des cas et de bons résultats dans 50 % des cas, les effets favorables étant les mêmes que ceux décrits précédemment.

1.2. Action profonde.

1.2.1. Sur les sclérodermies (25) (32)

– LEURS CAUSES

Le tissu conjonctif est le siège de nombreuses manifestations pathologiques dont la nature et le mécanisme moléculaire et cellulaire ne sont pas définis. On les observe toutefois dans certaines formes de maladies rhumatismales, dans la pathologie de la paroi vasculaire et dans les affections qui intéressent les couches profondes du derme.

On constate alors des modifications qualitatives et quantitatives de la composition de la matrice intercellulaire.

C'est pourquoi on a parlé de maladies du Collagène, substance qui, avec l'Elastine et les Protéoglycanes, est un des principaux constituants de cette matrice.

En conséquence, une mauvaise régulation, de la biosynthèse de ces constituants entraînera une altération des structures et des fonctions. C'est aussi que, la sclérodermie progressive diffuse, considérée comme une maladie subaiguë ou chronique, se caractérise par de nombreuses manifestations cutanées.

— LES ALTERATIONS CUTANÉES.

L'atteinte de l'épiderme est en général secondaire. Au cours de l'évolution, les crêtes dermiques tendent à s'aplatir et l'enrichissement progressif par plages des grains de mélanine dans les cellules basales est remarquable.

La zone de jonction dermo-épidermique devient rectiligne et les altérations les plus accentuées siègent dans le tissu conjonctif du derme. Après l'état initial d'oedème, de vasodilatation et d'infiltration inflammatoire légère, la sclérose passe au premier plan.

Le processus sclérosant est dû à l'élargissement du derme à la suite de la multiplication des fibres collagènes qui ont tendance à se disposer de façon parallèle et à prendre un trajet horizontal. La sclérose à l'intérieur des septa du tissu adipeux cutané entraîne une diminution de ce tissu adipeux. Les follicules pileux et les glandes sébacées, sièges d'une grande activité mitotique, subissent une atrophie par compression, alors que les muscles érecteurs et les glandes sudoripares, à activité mitotique faible, sont relativement plus résistants. Les fibres élastiques restent indemnes, alors que le système vasculaire subit des altérations sous forme d'une vasodilatation dans les couches plus profondes, ou d'une sclérose périvasculaire ou encore d'un épaissement de la paroi.

Sur les bases de ces critères histologiques le principe pathogénique essentiel des altérations cutanées de la sclérodermie progressive paraît en rapport avec une néo-formation anormale des fibres collagènes.

On se demande à l'heure actuelle, s'il n'existe pas à l'origine de l'accroissement de la fibrillogenèse, une anomalie dans la composition de la substance fondamentale du derme. Des résultats d'examen physiques (thermo-contraction) et biochimiques plaident dans ce sens. On a mis en évidence des altérations de la substance fondamentale mésenchymateuse interfibrillaire.

Dès que la sclérose avec formation de fibres de collagène débute, l'oedème mucoïde, qui se forme à l'état initial d'inflammation, disparaît, de même que les mucco-polysaccharides. On a l'impression que les muccopolysaccharides sont consommés pendant la néoformation du collagène, par analogie avec ce qui se passe lors de la cicatrisation d'une plaie.

– UTILISATION DES INSAPONIFIABLES.

Les expériences effectuées par L. ROBERT et son équipe, ont révélé une action très nette des insaponifiables (Avocat - Soja) sur l'évolution du tissu conjonctif, sur sa composition et son métabolisme (84 - 85).

L'étude pharmacologique a donné les résultats suivants :

- l'activité des insaponifiables se caractérise par un effet très net sur le taux du collagène et des lipides tissulaires. Le taux de collagène diminue et celui des lipides tissulaires augmente.

- le rapport des constituants macromoléculaires solubles et insolubles augmente considérablement en faveur des constituants solubles dans le tissu conjonctif des animaux traités par les insaponifiables.

- le taux des protéases acides (cathepsines) et des collagénases tissulaires, ainsi que celui de l'aminopeptidase sérique, augmente chez les animaux traités par les insaponifiables. Ces effets obtenus avec un mélange d'insaponifiables de Soja et d'Avocat sont nettement supérieurs à ceux que l'on peut observer avec le stigmastérol seul ou avec la cortisone. Il existerait donc une potentialisation et une modulation de l'effet des ingrédients d'un des extraits par ceux de l'autre.

En bref, la forte activité collagénolytique provoquée par ces extraits pourrait être l'un des facteurs responsables des effets cliniques observés.

1.2.2. Action modificatrice du cholestérol ?

Des études sur le métabolisme des différents stérols sur l'organisme ont permis de constater que le bêta-sitostérol disparaît 7 à 10 fois plus vite que le cholestérol.

De plus, ce sitostérol favoriserait le métabolisme du cholestérol et diminuerait sa teneur dans le sang (94) (96).

PETERSEN avait remarqué que l'addition de 1 % de phytostérols de Soja à une diète athérogène prévient, chez les poussins, l'augmentation du taux de cholestérol dans le sang et le foie, ainsi que l'athérosclérose.

Plusieurs études confirmèrent par la suite la régression de l'hypercholestérolémie en présence de phytostérols (98) (95) et les premiers modificateurs de cholestérol à base de phytostérols furent lancés pour la première fois en 1959 aux USA. L'hypercholestérolémie étant supposée responsable des lésions vasculaires, le sitostérol provoquerait ainsi une sédation des spasmes artériels périphériques fonctionnels.

Deux théories expliquent ce phénomène. PETERSON pense que le sitostérol empêcherait compétitivement l'absorption du cholestérol alimentaire et de ce fait diminuerait l'hypercholestérolémie. Pour sa part, THIERS pense que le sitostérol se manifeste par une action d'eutrophie vasculaire avec amélioration de la circulation sanguine. Outre le sitostérol, le campésterol donnerait les mêmes effets. Action anti-cholestérol ou action vasculaire ?

Tous les stérols donneraient-ils le même effet ?

1.2.3. Action du Stigmastérol sur les névralgies et lumbagos.

“La crise de Lumbago, les névralgies sciatiques et cervico-brachiales d'étiologie rhumatismale obéissent au Stigmastérol et ce avec une régularité remarquable et des exceptions inattendues” (95).

Comme le Stigmastérol a une action d'assouplissement musculaire et ligamentaire et n'est absolument pas un antinévralgique, son efficacité serait-elle liée au mécanisme discal et musculaire des névralgies en rapport avec la pathologie vertébrale ?

1.2.4. Syndrome d'épiphysite douloureuse bénigne.

“Nombre d'enfants, souvent peladiques ou ichtyosiques présentent un ensemble de troubles de croissance discrets, qui peuvent se traduire par les divers aspects du syndrome “douleur de croissance” et que l'on peut mettre en évidence cliniquement et radiologiquement (95 - 96).

L'association des insaponifiables de Maïs et de Palme avec l'acide glutamique donne d'excellents résultats.

1.2.5. Sur la pyorrhée alvéolo-dentaire.

L'insaponifiable d'Avocat et celui de Maïs est un des rares traitements efficaces dans la pyorrhée alvéolo-dentaire ou parodontose de Weski.

“L'insaponifiable a un effet suspensif mais non curatif. Un traitement met à l'abri des accidents pendant un certain nombre de mois mais n'a pas une action définitive. Cependant, la rechute est aussi sensible au traitement qu'une première atteinte. L'insaponifiable suffit à lui seul dans les formes non suppuratives se traduisant par la seule mise à nu de la racine du fait d'une lyse parallèle de la gencive et de l'alvéole.

A partir du moment où se produit le cul de sac pyorrhéique, ou s'il existe des conditions locales associées, les traitements stomatologiques restent indispensables” (95).

En bref, la forme sèche de la parodontose pourrait relever du seul insaponifiable où la partie active ne réside pas dans le bloc stérolique. Les formes pyorrhéiques ou associées exigent un traitement local dont l'insaponifiable augmente l'activité et prolonge l'action favorable.

2. Insaponifiables et vitamines (2 - 18 - 19 - 20 - 21 - 36 - 71 - 72 - 94).

Un autre intérêt des insaponifiables réside dans leur contenu vitaminique : vitamine E et caroténoïdes principalement.

2.1. La vitamine E (23 - 42 - 49 - 73 - 90 - 91)

La vitamine E ou acétate de dL - α tocophérol existe dans toutes les huiles végétales dans des proportions variables. Les huiles de germes de graminées (blé - maïs) sont les plus riches. On en trouve également dans les huiles de consommation alimentaire (soja - tournesol).

Le tocophérol exerce une double action :

- . une action vitaminique
- . une action antioxygène

et ces deux actions varient en sens inverse l'une de l'autre. Il existe sept tocophérols dont les quatre premiers ont des propriétés connues.

L' α - tocophérol possède la propriété vitaminique la plus importante et la propriété antioxygène la plus réduite. Il est bien évident que l'on a intérêt à utiliser dans les préparations cosmétiques, un antioxydant naturel, comme le tocophérol, car ce dernier est moins susceptible de donner lieu à des phénomènes d'irritation ou de sensibilisation cutanée que la plupart des phénols utilisés classiquement tels que les gallates, le B.H.A. ou le B.H.T. (6 - 91).

2.1.1. Effets thérapeutiques et protecteurs

La présence de la vitamine E ou α - tocophérol est nécessaire pour l'utilisation efficace de l'oxygène dans les tissus, et l'on tient pour vraisemblable l'intervention directe de la vitamine E dans l'oxydation biologique (84). Pour cette raison, cette vitamine a une action de protection ou d'épargne sur la vitamine A et autres caroténoïdes aussi bien que sur les acides gras insaturés.

D'autre part, la vitamine E aurait un effet accélérateur sur la microcirculation veineuse et artérielle. Elle améliorerait la perméabilité capillaire et régulariserait la température de la peau. On pourrait donc envisager son emploi dans les crèmes destinées aux soins des peaux couperosées.

En outre, la vitamine E jouerait un rôle dans l'entretien des tissus conjonctifs. Une étude récente (13) fut consacrée à l'action de la vitamine E sur le métabolisme du collagène de la peau de rat. Cette étude rapporte que, chez le rat carencé en vitamine E, le collagène est plus soluble dans certaines solutions (Na Cl et Acide Acétique) ; ce qui ne serait pas le cas lorsque l'animal reçoit une dose normale de cette vitamine. Les auteurs concluent, après étude de la formation de gels à 37° et de leur stabilité à + 4°, que la vitamine E interviendrait dans le processus de réticulation du collagène. Cette action, ainsi que l'action antioxygène, pourrait être expliquée par la faculté que présente le tocophérol de fixer les radicaux libres et d'intervenir dans les réactions en chaîne.

Cette dernière propriété du tocophérol en ferait-elle un antioxydant capable de freiner efficacement le vieillissement accéléré de la peau ? (9) (61).

En effet, il est à présent admis que c'est l'exposition chronique à la lumière du soleil qui est la cause primordiale du vieillissement de la peau. Et l'on sait aussi que la perte d'élasticité qui en est un des premiers signes sur le visage et sur les mains qui sont constamment exposés, est due à la dégradation des fibres de collagène qui constituent la majeure partie du derme. De nombreux spécialistes se sont interrogés sur les mécanismes possibles de cette dégradation "in vivo" de la peau au soleil, mais il faut bien dire que l'on sait encore bien peu de choses dans ce domaine. Pourtant, la dégradation lente du collagène "in vivo" présente des analogies frappantes avec la dégradation à la lumière des protéines "in vitro" qui est de mieux en mieux connue.

Comme pour le vieillissement de la peau, on parle en photochimie des protéines, de radicaux libres, de peroxydes, de groupements carbonyles, de réticulation par des liaisons intermoléculaires. Ainsi, les radiations ionisantes ou ultra-violettes provoquent la dégradation primaire des protéines, qu'il s'agisse de la Kératine, du collagène du derme, ou des protéines constitutives des membranes lysosomales dont on connaît la sensibilité vis à vis des radicaux libres. Il est probable d'ailleurs que certains des phénomènes biologiques qui suivent l'exposition à lumière ultra-violette, soient dûs justement à la dégradation par autoxydation en chaîne des lipides et des protéines constituant ces membranes, et à la libération subséquente des différents enzymes qu'elles retiennent. Quoiqu'il en soit, les radicaux libres jouent très certainement un rôle dans le vieillissement de la peau comme du reste de l'organisme (9 - 45 - 60 - 103 - 107).

Pourquoi ne pas envisager alors l'emploi d'antioxydants naturels qui puissent jouer le rôle de piège pour les radicaux libres ou décomposer les hydroperoxydes ?

Il reste encore beaucoup à faire dans ce domaine mais déjà, pourtant, la vitamine E est très utilisée par les dermatologues. Ces derniers préconisent son emploi dans le traitement des ulcères des jambes, des cors, et plus généralement, des brûlures et blessures (10 - 16 - 33 - 46 - 89 - 96). La vitamine E, soit sous forme d'acétate, soit sous forme non estérifiée, employée topiquement est utile pour la guérison du prurit grave (42 - 97 - 100).

"Un mélange de vitamine E et de vitamine A utilisé localement chez le rat, accroît le stockage de la seconde de ces vitamines dans l'organisme. Cette augmentation des réserves de vitamine A en présence de vitamine E a été interprétée comme une action d'épargne exercée par la vitamine E" (86)

L'association de ces deux vitamines a d'ailleurs été employée avec grand succès dans les cas d'hyperkératose et de sclérodermie (25 - 32).

2.1.2. Absorption percutanée.

Outre ses effets thérapeutiques, on a également étudié l'absorption percutanée de cette vitamine (42).

Une étude a été faite, en particulier, en vaporisant de l'acétate d' α - tocophérol, marqué, sur la surface de la peau. Par radiomicrographie, on a tenté de déterminer les conditions d'absorption de la vitamine, et on a constaté deux voies d'absorption jusqu'au derme :

– d'une part, à travers la couche cornée, l'épiderme et la ligne de séparation entre le derme et l'épiderme.

– d'autre part, à travers le canal pilosébacée.

Aucune voie de passage n'a été constatée à travers les canaux sudoripares. Mais, si la vitamine E marquée n'a pas été détectée dans les glandes et les canaux sudoripares, on a cependant retrouvé une certaine quantité de produit dans l'environnement du système et dans les vaisseaux sanguins avoisinants.

On s'est donc intéressé à la vitamine E dans le contrôle de la perspiration (44). L' α - tocophérol est capable de neutraliser l'action des bactéries axillaires en agissant comme antioxydant. En effet, c'est l'association oxygène-bactéries qui provoque le rancissement des constituants lipidiques de la sueur, et cette association devenue impossible entraîne la suppression de toute odeur déplaisante. La vitamine E peut donc remplacer avantageusement les bactéricides et fournir des préparations d'une inocuité totale.

2.2. Les caroténoïdes (84 - 99).

Bien que n'ayant pas une finalité vitaminique, il faut mentionner l'utilisation des caroténoïdes comme agents de coloration. Le carotène est la provitamine A naturelle et le groupe des caroténoïdes auxquels le pigment appartient est bien connu comme source de colorants alimentaires naturels. Leur emploi est considéré comme inoffensif.

Par conséquent, "l'incorporation des caroténoïdes dans les produits cosmétiques est préférable à l'emploi des colorants artificiels, emploi toujours limité par des législations restrictives et la crainte d'effets nocifs. Il y a un grand nombre de caroténoïdes différents qui permettent d'obtenir des gammes de coloration allant du jaune au rouge, pouvant être aussi bien utilisés pour des produits cosmétiques gras que pour des produits cosmétiques aqueux".(83).

3. Insaponifiables et Hormones (54 - 98).

L'un des débouchés les plus intéressants des stérols est la synthèse de nombreuses hormones stéroïdes, sexuelles ou adrénocorticales aux emplois multiples.

Historiquement d'ailleurs, le stigmasterol a été la première matière utilisée pour cette synthèse.

Actuellement, on emploie aussi le cholestérol et les acides biliaires mais la demande toujours plus grande de ces hormones laisse prévoir que d'autres sources, les sitostérols en particulier, peuvent être utilisées. En effet, de nombreuses possibilités s'offrent pour réaliser la synthèse de la progestérone, l'androstérone, la déhydroandrostérone, la testostérone, la prégéninolone et la désoxycorticostérone.

Le stigmastérol et d'une façon générale tout stérol ayant une deuxième double liaison dans la chaîne latérale, est une source de progestérone.

On se rend compte ainsi du débouché que représente cette synthèse pour les phytostérols.

UPJOHN, utilise entre autres, le Stigmastérol du Soja pour préparer sa cortisone (98).

Par ailleurs, des chercheurs ont mis en évidence l'activité oestrogénique de l'huile de germe de maïs sans pouvoir préciser la nature du principe actif de cette huile (89 - 90).

Conclusion.

Toutes ces observations conduisent à faire plusieurs remarques :

- l'intérêt que l'on porte aux insaponifiables est largement motivé.
- ces insaponifiables ont été beaucoup étudiés et utilisés grâce aux nombreuses propriétés qui leur sont reconnues :
 - . activité polyvalente sur la peau et les muqueuses
 - . innocuité totale
 - . action eutrophique sur tous les tissus
 - . activité vitaminique.
 - . précurseurs d'activité hormonale.

Cette activité polyvalente, dispersée, mais avec une dominante pour la peau et les muqueuses, aiguisa la curiosité de nombreux chercheurs. Si cette activité est à présent reconnue il plane toujours un mystère sur le ou les principes actifs qui en sont responsables. Les opinions sont divergentes dans ce domaine et nous ne pouvons formuler que des hypothèses. S'agit-il isolément des stérols, des tocophérols, des alcools terpéniques ou aliphatiques, s'agit-il au contraire du totum d'insaponifiables ou bien encore de la part d'indéterminé ?

Certains préconisent l'emploi du totum d'insaponifiables où se trouve présent cet indéterminé en rappelant le fait que la digitaline cristallisée, par exemple, a un effet moindre que le totum digitalique. De plus, le bloc total de l'insaponifiable est un ensemble physiologique, bien équilibré, chaque élément jouant un rôle dans l'organisme qui l'a élaboré.

D'autres encore, préfèrent l'emploi de deux insaponifiables différents ou bien encore d'un insaponifiable enrichi en un stérol précis (85 - 95).

Dans ce cas on pense qu'il existe une synergie d'action entre les divers éléments ou bien une potentialisation des effets entre les différents constituants.

Enfin, certaines observations font pencher en faveur de cet indéterminé, puisque, les insaponifiables totaux, possèdent parfois une activité biologique ne correspondant pas à celle des éléments agissant isolément ou même en synergie. Il est difficile de donner une explication à cet état de fait, car, l'insaponifiable d'une huile est lui-même un monde complexe où prédomine quantitativement telle ou telle substance, ou tel ensemble de substances, mais qui contient toujours à l'état de traces, pondérables ou non, d'autres entités chimiques définies sans compter celles qui se dérobent encore à l'analyste et que l'on appelle l'indéterminé.



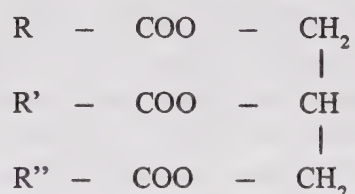
II – COMPOSITION DES INSAPONIFIABLES (31)

Définition (7)

Une huile végétale est un mélange complexe de constituants que l'on peut grouper selon leur nature, en deux fractions : la fraction glycéridique et la fraction non-glycéridique.

– la fraction glycéridique représente 98 p 100 en poids du corps gras et renferme surtout des triglycérides.

Les triglycérides sont constitués par des acides gras, estérifiés par le glycérol, de formule générale :



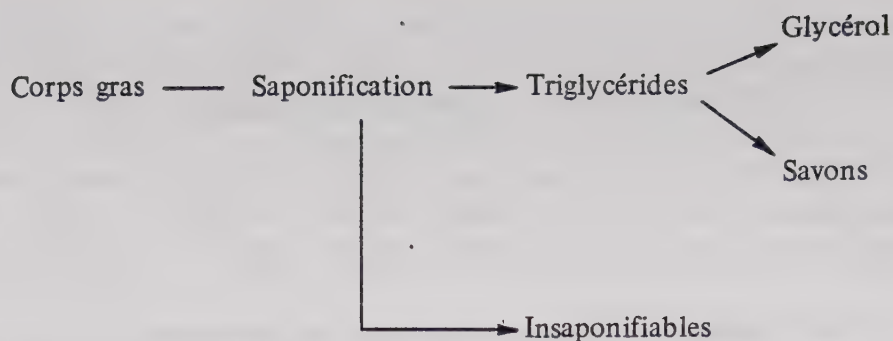
– la fraction non-glycéridique, mineure, est caractérisée par un grand nombre de composants. Les uns sont responsables de sa couleur (pigments caroténoïdes), de sa flaveur (aldéhydes - cétones), d'autres possèdent une valeur biologique reconnue (vitamine E - stérols) et interviennent dans la conservation du corps gras (tocophérols), quelques uns, sans rôle apparent (alcools - certains stérols) existent souvent en pourcentage suffisant pour représenter des critères analytiques.

L'étude de cette fraction non-glycéridique se heurte à certaines difficultés :

- . Les différents constituants sont présents en très faible quantité
- . Ils sont liposolubles.
- . Leur séparation de la fraction glycéridique est délicate.

Le problème fondamental de l'étude des composants non-glycéridiques est leur extraction de la masse glycéridique, partie prédominante du mélange : en effet, on se trouve en présence d'une solution à très faible concentration de solutés non volatils dans un solvant (les glycérides) également non volatil. C'est pourquoi, il sera nécessaire de transformer la masse glycéridique par saponification afin de la rendre soluble dans l'eau.

A ce stade on pourra extraire les substances, non saponifiées, par des solvants organiques.



En conséquence, on appellera “insaponifiable”, l’ensemble des constituants qui ne réagissent pas avec les bases fortes pour donner des savons.

Composition (27 - 62 - 70 - 75 - 76 - 81 - 101).

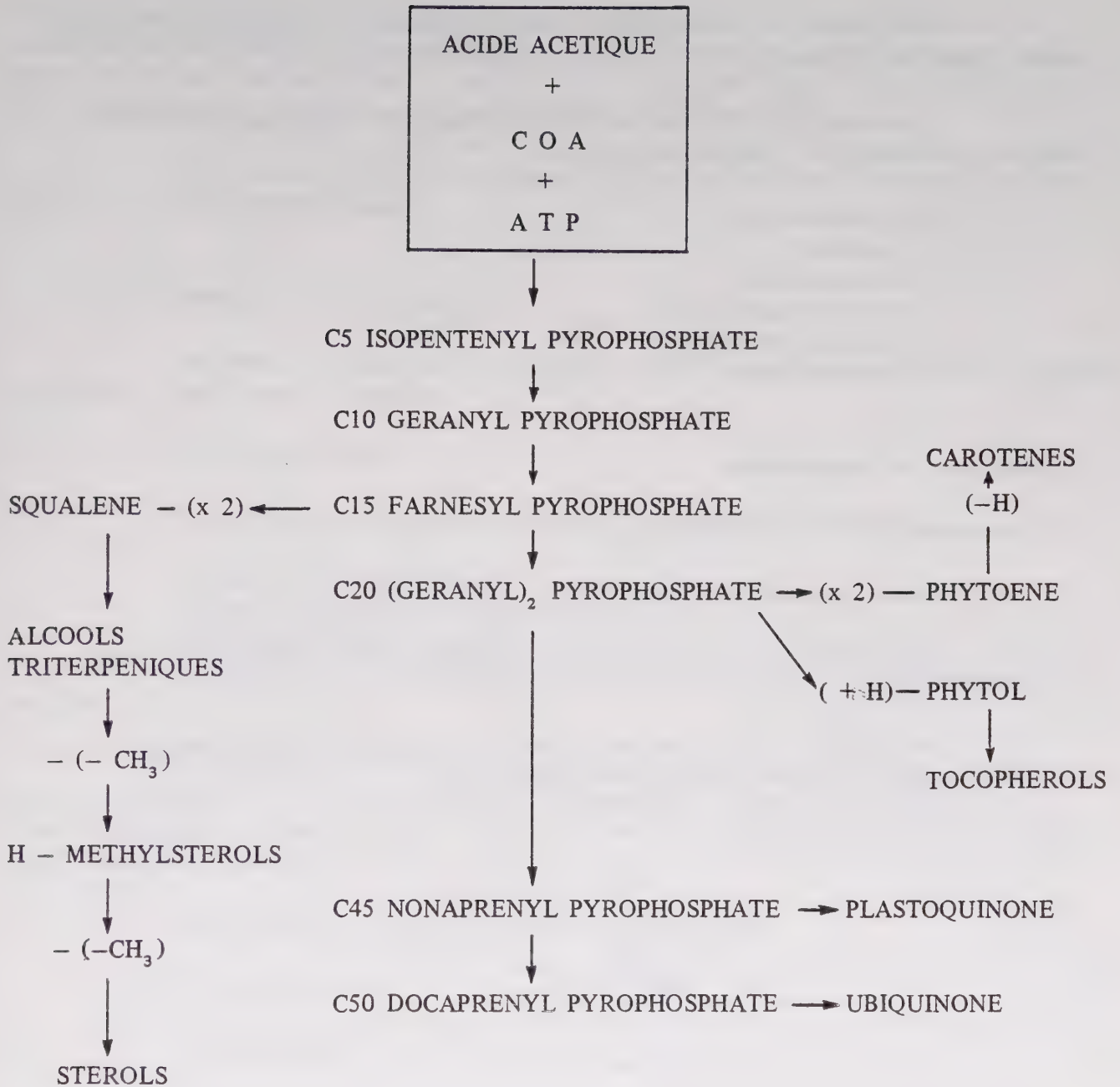
Bien que l’insaponifiable ne soit pas tout à fait identique dans sa composition au totum non-glycéridique, il s’en rapproche car il renferme une majorité de constituants naturellement présents dans l’huile (hydrocarbures - stérols - totophérols etc...) et des substituants résultant de la saponification de certains esters non-glycéridiques (esters de stérols, de monoalcools). Seuls les composés les plus fragiles sont détruits, ou éliminés, par le traitement alcalin (chlorophylles, pigments phénoliques) l’insaponifiable brut, obtenu, est un produit liposoluble, pâteux, de couleur jaune, orangée ou rouge.

Pour une espèce donnée, sa composition, qualitative et quantitative, varie avec le lieu, le moment de la récolte, les conditions de stockage.

Chaque espèce végétale a une composition qui lui est propre. L’insaponifiable est donc “un ensemble complexe de molécules qui, ayant en commun la liposolubilité, appartiennent à des familles chimiques les plus diverses et, à première vue, sans rapports mutuels” (95).

1. Origine des insaponifiables (11 - 50 - 73 - 74)

L’origine des constituants de l’insaponifiable résiderait dans la biosynthèse empruntant les voies suivantes : (74)



. le Farnésyl pyrophosphate, par duplication, conduit au squalène, précurseur des stérols.

. le Géranylgéranyl pyrophosphate, par une réaction du même ordre, donne des phytoènes dont la deshydrogénation aboutit à la formation des caroténoïdes.

L'hydrogénation de ce métabolite conduit au Phytol qui intervient sous forme estérifiée dans la structure des chlorophylles et participe à la biosynthèse des tocophérols.

. les Plastoquinones et Ubiquinones dérivent des chaînes polyterpéniques et sont présentes à l'état de traces.

. Par ailleurs, les insaponifiables végétaux renferment d'autres familles de constituants comme les hydrocarbures et les alcools supérieurs.

Les techniques analytiques modernes ont permis de séparer les différents et principaux constituants de l'insaponifiable qui sont :

- les hydrocarbures
- les stérols
- les tocophérols
- les alcools aliphatiques
- les alcools terpéniques
- les caroténoïdes.

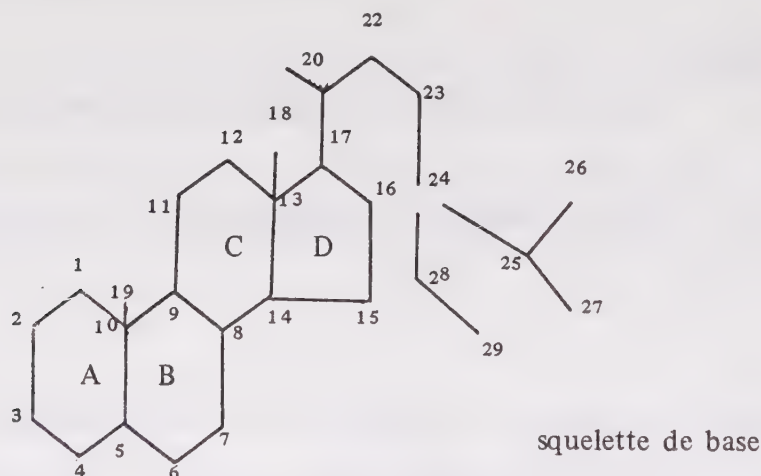
2. Constituants de l'insaponifiable.

2.1. Les stérols (28 - 29 - 39 - 53 - 97)

2.1.1. Structure générale des stérols (70)

Les stérols sont très répandus dans la nature et ont été intensivement étudiés sur le plan synthétique.

Ils possèdent tous un système polycyclique cyclopentanophénanthrénique sur lequel des chaînes latérales longues ou courtes peuvent être fixées.



Pour les stérols naturels, l'arrangement des cycles B et A est toujours trans et celui des cycles C et D est ordinairement trans (cis pour les cardénolides et bufadiénolides).

Les cycles A et B sont agencés en configuration cis ou trans avec une égale fréquence.

La configuration des substituants est déterminée par rapport à celle du méthyl-19 fixé en position 10, qui est conventionnellement considéré comme au-dessus du plan du cycle (position β). Les substituants en dessous du plan par rapport au méthyl - 19 sont dits en

position α . La connaissance de la conformation des substituants est très importante pour les propriétés physico-chimiques ; si les substituants sont dans le plan des cycles, ils sont dits équatoriaux et s'ils sont perpendiculaires au plan du cycle ils sont dits axiaux. Un 3 - bêta hydroxyle est équatorial dans un A/B trans-stéroïde et axial dans un A/B cis-stéroïde.

Les groupements fonctionnels équatoriaux sont généralement plus réactifs et plus polaires que les groupements axiaux.

2.1.2. Structure des phytostérols (54)

On trouve les stérols chez les végétaux à l'état libre, sous forme d'esters ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides.

● Les stérols libres

Ils sont voisins du cholestérol animal et caractérisés par l'existence :

- d'une fonction alcool en 3
- de deux groupements méthyl en 10 et 3
- de doubles liaisons éventuelles
- d'une longue chaîne aliphatique sur le carbone 17 plus ou moins insaturée et

ramifiée.

Les phytostérols ont des compositions chimiques similaires entre elles et similaires à celle du cholestérol, les principales différences résidant dans la chaîne latérale greffée sur le cycle pentagonal du squelette moléculaire et parfois aussi dans le nombre des groupements méthyl qui s'y rattachent (tableau 1).

Ainsi les formules brutes s'établissent-elles comme suit :

– CHOLESTEROL	$C_{27} H_{46} OH$
– SITOSTEROL	$C_{29} H_{50} OH$
– STIGMASTEROL	$C_{29} H_{47} OH$
– CAMPESTEROL	$C_{28} H_{47} OH$
– ERGOSTEROL	$C_{28} H_{45} OH$

	STEROLS	FORMULE BRUTE	Substitution en 2 4	Doubles Liaisons	Position des doubles liaisons
C ₂₇	CHOLESTEROL	C ₂₇ H ₄₆ O		1	5
C ₂₈	ERGOSTEROL	C ₂₈ H ₄₄ O	CH ₃	3	5 - 7 - 22
	BRASSICASTEROL	C ₂₈ H ₄₆ O		2	5 - 22
	CAMPESTEROL	C ₂₈ H ₄₈ O		1	5
C ₂₉	STIGMASTEROL	C ₂₉ H ₄₈ O	C ₂ H ₅	2	5 - 22
	SITOSTEROL	C ₂₉ H ₅₀ O		1	5

TABLEAU 1 : Caractéristiques des stérols les plus souvent rencontrés (105)

Les stérols des huiles végétales sont formés en général de trois composants de base, le bêta-sitostérol, le stigmastérol et le campestérol, dont les proportions varient, avec une prépondérance de sitostérol (28). Il y a peu d'exceptions à cette règle. C'est ainsi que, la composition en stérols des huiles végétales, (Tableau 2) étant constante, elle permettra de contrôler la pureté et la nature d'une huile.

En effet, l'oxydation d'une huile ou son hydrogénation, ne modifie pratiquement pas la composition des stérols. On peut donc, par l'étude des stérols, identifier les huiles oxydées, polymérisées ou hydrogénées, alors que la composition en acides gras ne donne plus aucune indication valable sur la nature de l'huile parce que modifiée trop profondément par les traitements antérieurs.

Nature de l'huile	Cholestérol	Brassicastérol	Campestérol	Stigmastérol	β - Sitostérol
Amande	—	—	3	—	97
Noisette	—	1	5	—	94
Olive	—	—	3	—	97
Arachide	1	—	12	12	76
Colza	—	10	27	—	63
Maïs	—	—	20	6	74
Soja	—	—	19	24	57
Tournesol	—	—	11	8	62
Pépin de raisin	—	—	10	17	73

TABLEAU 2 : Composition des stérols en pourcentage des stérols totaux (38)

- Les esters de stérols ou stérides
ils sont parfois rattachés aux lipides.

- Les génines stéroïdiques
on peut les diviser en deux grands groupes :

- génines d'hétérosides
- sapogénines

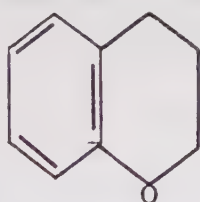
Ces sapogénines stéroïdiques se caractérisent par leur pouvoir moussant.

2.2. Les tocophérols (63)

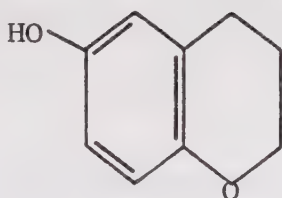
– Structure

On a vu que l'hydrogénation du géranylgeranylpyrophosphate engendre le phytol. Ce dernier est à l'origine de la biosynthèse des tocophérols.

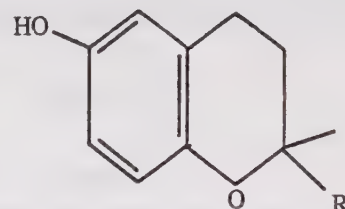
Ces corps dérivent du noyau benzodihydropyrane ou chromane portant un hydroxyl sur le carbone 6 (6 - chromanol). Sur le carbone 2 figurent un groupement méthyl et une chaîne R isoprénique à 16 atomes de carbone appelée chaîne phytyle.



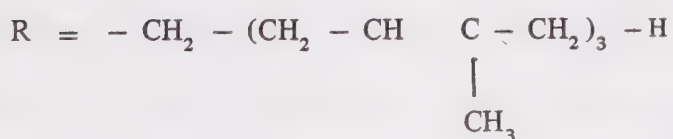
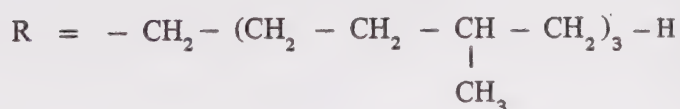
CHROMANE



CHROMANOL



TOCOPHEROLS



TOCOTRIENOLS

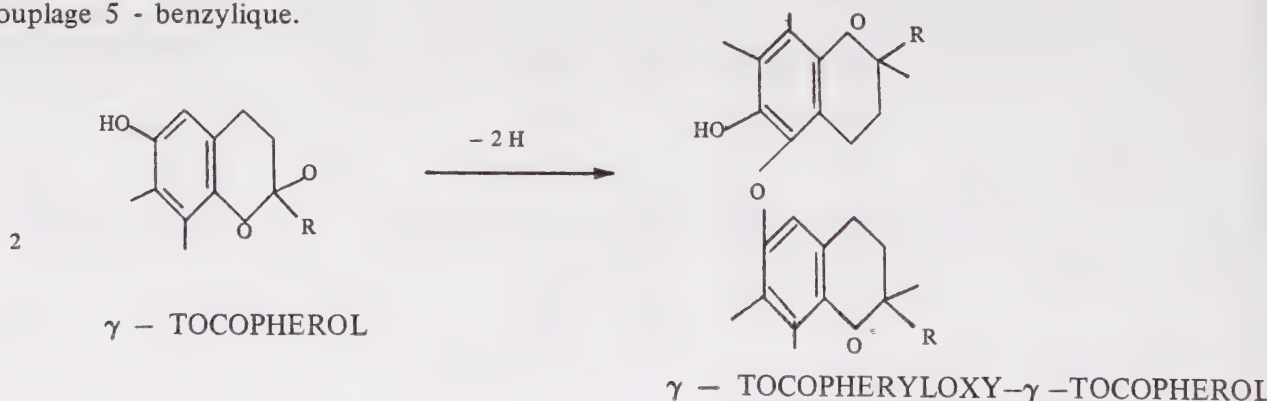
Substituants du Noyau	TOCOPHEROLS	TOCOTRIENOLS	Ancienne NOMENCLATURE
5 - 7 - 8 TRIMETHYL	α - TOCOPHEROL	α - TOCOTRIENOL	ou 3 ₁ TOCOPHEROL
5 - 8 DIMETHYL	β - TOCOPHEROL	β - TOCOTRIENOL	ϵ TOCOPHEROL
7 - 8 DIMETHYL	γ - TOCOPHEROL	γ - TOCOTRIENOL	η TOCOPHEROL
8 MONOMETHYL	δ - TOCOPHEROL	δ - TOCOTRIENOL	

TABLEAU 3 : Nomenclature des composés tocophéroliques naturels (49)

A côté des quatre tocophérols normaux, à chaîne latérale R saturée (Tableau 3), on distingue quatre tocotriénols à chaîne triinsaturée. Ces derniers sont présents, en particulier, dans l'huile de palme, et jouent probablement le même rôle que les tocophérols.

– Propriétés

Une propriété intéressante à signaler est la polymérisation qui s'effectue sous l'influence d'agents extérieurs ou même spontanément. Le γ - tocophérol se dimérise facilement même conservé à froid. Il a été démontré (49) que le couplage oxydatif a lieu en position 5 lorsqu'il n'y a pas de substituant à cet endroit. Dans le cas contraire (– CH₃ en 5) il y a formation d'un couplage 5 - benzylique.



DIMERISATION DU γ - TOCOPHEROL

Bien que l'origine de ces polymères ne soit pas entièrement élucidée, on admet en général, qu'ils peuvent apparaître comme artéfacts du processus d'isolement, par oxydation à l'air et à la lumière et que, biologiquement il s'en formerait un peu.

Malgré la deshydrogénation qui accompagne leur formation, ces oxypolymères conservent les propriétés réductrices de la fonction phénol. Cette dernière est confirmée depuis les travaux de MOUREY et DUFRAISSE mettant un point final aux controverses opposant ceux qui considéraient le tocophérol comme un alcool et ceux qui l'identifiaient à un stérol. C'est cette fonction phénol qui est responsable de leur action anti-oxygène, protectrice des corps gras, la chaîne isoprénique leur conférant la liposolubilité.

Les teneurs en tocophérols d'un corps gras donné varient dans d'assez grandes proportions selon l'origine, l'état d'altération de celui-ci ou les opérations technologiques qu'il a pu subir. Les chiffres portés dans le tableau 4 correspondent à des valeurs moyennes pour des huiles brutes.

CORPS GRAS	TOCOPHEROL TOTAUX en μ g/g	TOCOPHEROLS INDIVIDUELS (Composition centésimale)			
		α	β	γ	δ
BLE	2800	59	41	—	—
MAIS	1167	11.6	—	84,5	3,9
SOJA	1140	7	—	58	35
COLZA	673	35,3	—	63.1	1.6
TOURNESOL	730	85.5	—	14.5	—
ARACHIDE	244	32.7	—	67.3	—
OLIVE	174	100	—	—	—
SAINDOUX	27	85	—	—	—
SUIF	10	—	—	—	—

TABEAU 4 : Teneurs en tocopherol de quelques corps gras (49)

2.3. Les hydrocarbures (62 - 79)

On désigne sous ce terme un ensemble de constituants qui, selon la configuration ou l'insaturation de leurs chaînes, pourront être classés en plusieurs groupes :

- les hydrocarbures saturés ou paraffiniques
- les hydrocarbures insaturés
- les hydrocarbures terpéniques
- les hydrocarbures polycycliques.

Ils sont caractéristiques par :

- leur faible teneur dans l'insaponifiable (1 à 10 p 100)
- leur grand nombre
- leur très faible polarité.

2.3.1. Les hydrocarbures saturés

On peut à leur tour les diviser au moins en deux séries :

- la série normale ou n - alcanes

Exemple : le TETRACOSANE

- la série iso et/ou anté iso

Exemple : le 2 - METHYLOCTACOSANE

Les termes de C_{11} à C_{35} pairs et impairs sont en général présents pour ces trois séries (tableau 5).

Les hydrocarbures saturés forment une petite fraction de l'insaponifiable et il est évident qu'ils proviennent intacts des composés non-glycéridiques du fait de leur stabilité.

CORPS GRAS	n - ALCANES	ISO et/ou ANTE ISO	HYDROCARBURES NON IDENTIFIES	TOTAL HYDROCARBURES
MAIS	$C_{11} - C_{31}$	$C_{11} - C_{21}$	8	40
ARACHIDE	$C_{11} - C_{30}$	$C_{11} - C_{23}$	7	40
COLZA	$C_{11} - C_{31}$	$C_{11} - C_{17}$	6	36
LIN	$C_{11} - C_{35}$	$C_{11} - C_{21}$	7	43
OLIVE	$C_{11} - C_{30}$		6	29

TABEAU 5 : Composition en hydrocarbures saturés de quelques corps gras (105)

2.3.2. *Hydrocarbures insaturés.*

Ils ne sont pratiquement représentés que par le squalène, composant important de l'insaponifiable dans certains cas (huile d'olive). Le squalène représente un intermédiaire fondamental de la biosynthèse des alcools triterpéniques et des stérols. Sa présence est constante dans tous les corps gras (Tableau 6).

CORPS GRAS	HYDROCARBURES %	SQUALENE %
OLIVE	2.8 – 3.5	32 – 50
LIN	3.7 – 14	1 – 3.9
THE	3.4 – 3.8	2.4 – 2.8
SOJA	3.5 – 4	2.4 – 2.8
COLZA	8.5 – 9	4.1 – 4.4
MAIS	1 – 1.5	2 – 2.5
SAINDOUX	23.8 – 24	4.3 – 5

TABLEAU 6 : Hydrocarbures insaturés de quelques corps gras (62)

2.3.3. *Hydrocarbures terpéniques (62 - 92)*

Ils sont représentés par les caroténoïdes qui sont des tétraterpènes de configuration linéaire ou cyclique.

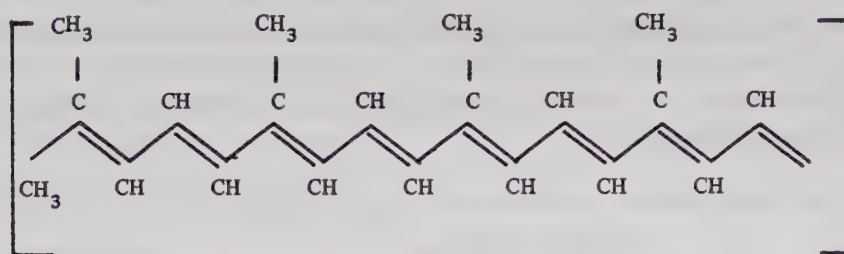
Ce sont les pigments responsables de la coloration jaune, orangée ou rouge de l'huile brute.

Les caroténoïdes ont des propriétés caractéristiques :

- . ils sont représentés en très faible quantité
- . ils sont très sensibles à l'oxydation
- . ils sont instables en présence de la plupart des agents chimiques.
- . leurs produits de dégradation confèrent à l'huile un aspect défavorable.
- . leur coloration diminue de pair avec le nombre de doubles liaisons conjuguées.

Toutes les structures des molécules caroténoïdiques sont caractérisées par une composition systématique : huit éléments isopréniques sont rangés symétriquement autour d'une double liaison centrale. Les deux groupes méthyle les plus rapprochés du centre de la molécule sont en position 1 : 6, les autres, exceptés les groupes méthyle terminaux se trouvent en position 1 : 5.

Tous les caroténoïdes peuvent être dérivés d'un hydrocarbure $C_{40} H_{56}$ de la structure acyclique.



2

Structure de base des caroténoïdes.

Selon les règles de nomenclature, le mot "carotène" représente le terme générique de tous les caroténoïdes (62).

Nous connaissons les carotènes α , β , γ , δ , ϵ et le lycopène, tous constitués à partir de la même chaîne polyène interne. Les deux éléments isopréniques terminaux forment des cycles ou sont acycliques. La position des doubles liaisons varie. Dans les tissus végétaux frais les carotènes se trouvent entièrement sous forme trans, mais les processus du séchage, de l'extraction et de l'isolement peuvent provoquer une transformation artificielle trans - cis une dégradation ou une décomposition.

En raison de leur poids moléculaire et de leur très forte insaturation, les caroténoïdes sont difficiles à étudier en analyse fine (chromatographie en phase gazeuse).

HUILE	TENEUR EN CAROTENOIDES (ppm)		
	TOTAUX	HYDROCARBURES	HYDROXYLES
COLZA	51	4.8	44
SOJA	48	5.2	39
TOURNESOL	1.1	1	—

TABEAU 7 : Teneur en caroténoïdes des huiles végétales (62)

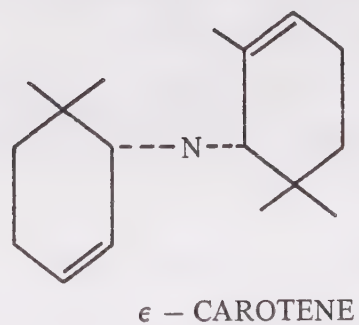
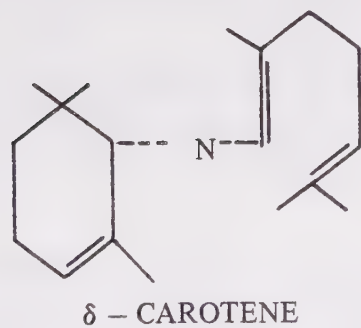
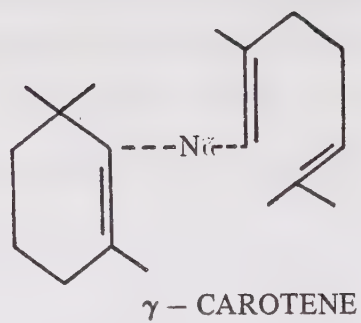
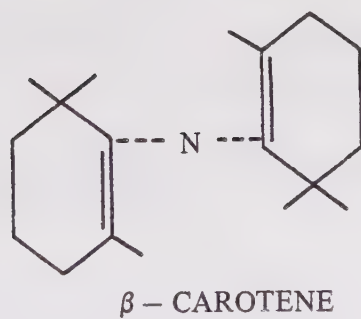
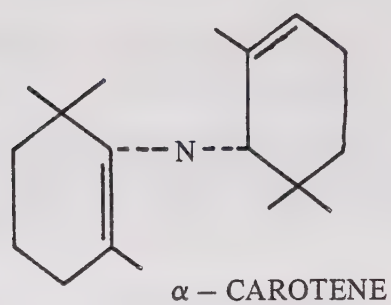
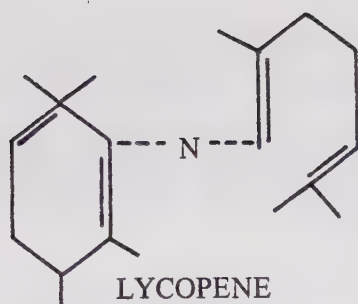
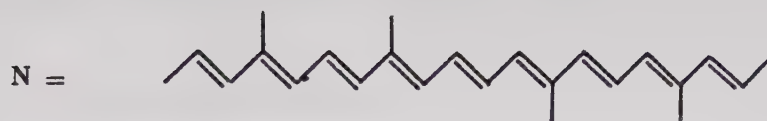
2.4. Les xanthophylles

Ce sont des dérivés des caroténoïdes contenant dans leur molécule des atomes d'oxygène engagés sous des formes diverses (céto, hydroxyl, époxy...).

On peut citer la Lutéïne, la zéaxanthine, la cryptoxanthine, la cantaxanthine.

C'est ainsi que la plus grande partie des caroténoïdes des huiles de soja et de colza sont polaires (xanthophylles)

STRUCTURE et NOMENCLATURE des CAROTENES (62)



2.5. Les alcools.

La catégorie des alcools comprend deux groupes d'inégale importance :

- les alcools saturés de la série normale ou alcools aliphatiques
- les alcools terpéniques qui par la variété de leurs composés et leur intérêt biogénétique représentent le groupe le plus intéressant.

Ces deux groupes, de structure chimique différente, présentent des propriétés communes. Etant de polarité semblable ils posent cependant des problèmes d'analyse.

2.5.1. Les alcools aliphatiques (43)

Ils existent dans des proportions comprises entre 0,01 et 0,1 % et leur nombre d'atomes de carbone varie de 16 à 32 avec prédominance des termes à poids moléculaire élevé

La présence d'alcools aliphatiques supérieurs dans les huiles végétales s'explique en partie par le fait que celles-ci renferment presque toujours des cires d'origine cuticulaire entraînées au cours de la pression ou de l'extraction.

La cire est totalement transformée au cours de la saponification et les alcools de constitution se retrouvent dans l'insaponifiable.

2.5.2. Les alcools terpéniques (5 - 11 - 14 - 17 - 43).

Cette dernière catégorie de composés représente en moyenne 20 à 50 % de l'insaponifiable c'est à dire 0.2 à 0.5 % d'une huile végétale et se trouve habituellement constituée d'un mélange d'au moins cinq composants.

Les alcools terpéniques dérivent des terpènes, de formule brute $(C_5H_8)_n$, résultant de la condensation du groupe isoprène. (Le tableau 8 suivant permet de distinguer les alcools dérivant des différents terpènes.

TERPENE	FORMULE BRUTE	n	ALCOOL CORRESPONDANT
ISOPENTANE	$C_5 H_{10}$	= 1	—
MONOTERPENE	$C_{10} H_{16}$	= 2	MENTHOL
SESQUITERPENE	$C_{15} H_{24}$	= 3	FARNESOL
DITERPENE	$C_{20} H_{30}$	= 4	PHYTOL
TRITERPENE	$C_{30} H_{48}$	= 6	CYCLOARTENOL

TABLEAU 8 : Principaux alcools terpéniques (5)

– Alcools monoterpéniques.

Très volatils, ils ont généralement une odeur agréable et sont les principaux constituants des huiles essentielles.

On peut citer le CITRONELLOL, le GERANIOL, le MENTHOL, le TERPINEOL.

– Alcools sesquiterpéniques.

Ces alcools sont d'un poids moléculaire plus élevé que celui des alcools monoterpéniques. Ils sont encore trop volatils pour être retrouvés dans l'insaponifiable où leur présence n'a pas été signalée jusqu'à présent.

– Alcools diterpéniques.

Ils sont beaucoup moins volatils. On les retrouve dans l'insaponifiable des huiles et des graisses, en particulier le phytol dans l'insaponifiable du beurre de cacao, le géranyl-géraniol dans l'insaponifiable d'huile de lin (Tableau 8).

– Alcools triterpéniques.

Ils possèdent un noyau phénanthrène comme les stérols et ont été identifiés dans l'insaponifiable d'un grand nombre de corps gras.

Très rarement à l'état libre, ils sont, soit estérifiés par des molécules d'acides organiques, soit polymérisés.

Sur les 214 triterpènes connus on dénombre 80 alcools triterpéniques répertoriés en groupes et sous-groupes et se classant en monoalcools, diols, triols, tétraols, pentaols, hexaols. Les alcools triterpéniques existent dans le règne animal comme dans le règne végétal et certains sont communs aux deux règnes.

Les alcools triterpéniques du règne animal ont un squelette dérivant soit de l'Ambrane, soit du Lanostane ; les plus communs sont le Lanostérol qui est le seul triterpène constitutif du lait des animaux supérieurs, L'Ambréine et l'Agnostérol. Tous les autres triterpènes sont spécifiques du règne végétal.

Les principales sources sont constituées par l'insaponifiable des huiles essentielles, des latex, des huiles et des graisses. Les alcools triterpéniques des huiles de graines sont des monoalcools du type de l' α et de la β - amyryne, du cycloarténol et du butyspermol.

Les insaponifiables des huiles de karité et des huiles de germes sont les plus riches en alcools triterpéniques (Tableau 9).

Ce n'est que récemment que l'on s'est intéressé, dans l'analyse des corps gras, aux alcools terpéniques et plus spécialement aux monoalcools triterpéniques. Ces études ne sont

que la conséquence d'une amélioration des méthodes de fractionnement de l'insaponifiable.

CORPS GRAS	β AMYRINE	Cyclo – Artanol	Buty – Spermol	α Amyrine	Euphor- bol	Cyclo – Artenol	Cyclo- Laudenol	24 - CH ₃ cyclo Artanol
LIN	—	—	—	+	—	+		+
ARACHIDE	+	—	—	—	—	+		+
OLIVE	+	—	+	—	—	+		+
BLE	+	+	—	—	—	+		+
PALME	—	+	—	—	—	+		+
COLZA	+	+	—	—	—	+		+
TOURNESOL	—	—	—	—	+	+		+
SOJA	—	—	—	—	—	+		+
BEURRE DE CACAO	+	—	—	+	—	+		+

TABLEAU 9 : Alcools triterpéniques de différentes huiles végétales (27)

Une douzaine seulement des 80 alcools triterpéniques identifiés semblent se retrouver à des concentrations variables, dans l'insaponifiable des corps gras végétaux ; le cycloarténol et le 24 - méthylène cycloartanol sont presque toujours présents. La présence constante du cycloarténol est liée à son importance biologique puisqu'il est considéré comme le précurseur des stérols (11). En effet, il existe une parenté très étroite entre les stérols et les alcools tétracycliques ; ces derniers sont considérés comme des trimethylstérols mais l'on peut dire aussi que les stérols dérivent des triterpènes par déméthylation (62).

3. Les moyens d'étude.

3.1. Obtention de l'insaponifiable.

L'étude de la structure et de la composition des corps gras date des origines de la chimie organique. L'étude des composants non-glycéridiques des huiles, est, par contre, bien plus récente. Toutefois, comme nous l'avons vu, ce sont les glycérides eux-mêmes qui constituent le plus gros obstacle à la recherche des composants non-glycéridiques. D'où l'élaboration de techniques plus ou moins sophistiquées pour isoler les substances non-glycéridiques : distillation moléculaire, cristallisation, extractions diverses.

3.1.1. La distillation moléculaire (26)

Ce procédé, actuellement très utilisé, consiste à distiller sous un vide de l'ordre de 1/1000 mm de mercure, à des températures exactement programmées, une solution dont on veut extraire l'un des constituants en particulier.

On peut ainsi obtenir un distillat de 10 à 30 fois plus concentré en insaponifiable.

Cette technique, très délicate dans sa mise au point, permet de séparer des substances très fragiles, étant donné la rapidité de la distillation, tout en respectant leur qualité d'origine. Le coût que représentent les investissements, inconvénient de cette technique, est largement compensé par la qualité du produit obtenu.

3.1.2. La cristallisation fractionnée (40 - 41 - 45).

Réalisée à basse température, dans un solvant, cette méthode n'éprouve pas la matière traitée.

On dissout le corps gras dans l'acétone et, au refroidissement, dans ce solvant, il se développe des cristaux de bonne structure pour la filtration.

La teneur des produits non-glycéridiques augmente dans la phase liquide à mesure que baisse la température.

3.1.3. La saponification.

Tout en étant le premier procédé mis en oeuvre, il est actuellement encore très précieux malgré ses inconvénients.

La saponification est la coupure des liaisons esters existant dans l'extrait lipidique par une base forte. On libère ainsi les sels d'acides gras hydrosolubles provenant en particulier des glycérides et on recueille les substances non hydrosolubles mais solubles dans les solvants organiques et qui constituent l'insaponifiable.

La saponification se fait au bain-marie bouillant dans un ballon avec réfrigérant à reflux en présence de potasse alcoolique et pendant six heures.

On élimine par évaporation l'alcool présent dans le milieu réactionnel ; on ajoute au mélange une certaine quantité d'eau, ce qui permet l'extraction de l'insaponifiable par l'éther éthylique.

Ce dernier est lavé à l'eau distillée pour éliminer les traces d'alcalinité, puis séché sur du sulfate de sodium anhydre et évaporé ; le résidu est placé à l'étuve ; il contient la fraction insaponifiable.

Le résidu provenant de l'extrait éthéré, réalisé sur le mélange de saponification, est pesé. Il permet de déterminer le pourcentage d'insaponifiable dans le corps gras. On peut

faire certains reproches à cette méthode ;

— il se produit une réaction chimique de destruction, de même qu'une "démolition" des composants mineurs, labiles, dans les alcalis et qu'on ne pourra étudier dans leur forme originale.

3.1.4. Les extractions.

De nombreuses méthodes d'obtention de l'insaponifiable, par extraction, figurent dans la littérature.

Certaines préconisent un procédé d'extraction au moyen d'un hydrocarbure gazeux sous pression (97), d'autres proposent l'extraction après saponification alcoolique et précipitation du concentrat par hydratation du filtrat alcoolique (95).

Un procédé mis au point au laboratoire Jean Ripert a fait l'objet d'un brevet de l'Institut des Corps gras, brevet intitulé "Procédé d'extraction des brais de distillations d'acides gras". Ce procédé (97) met en oeuvre plusieurs opérations. Après saponification en milieu alcoolique, on purifie le savon formé par relagages et lavages. Les impuretés hydrosolubles sont ainsi éliminées. On sèche le savon purifié dans le but d'obtenir un produit sec apte à l'extraction.

On réalise ensuite une extraction à l'acétone, par lixiviation, durant trois à quatre heures. Le miscella acétonique coloré est filtré puis soumis à la distillation. Le concentré est ensuite refroidi. Il apparaît alors un précipité, qui, après filtration, séchage ou essorage donne des stérols.

Les produits obtenus peuvent être conservés et commercialisés tels que. Aux USA de nombreuses firmes livrent ainsi aux utilisateurs des stérols de soja à l'état brut titrant entre 50 et 80 % de pureté.

D'autres méthodes d'extraction ont été proposées (62 - 102) :

- extraction liquide - liquide, à froid, dans un appareil de Craig.
- extraction liquide - liquide, à chaud, suivant la méthode de Jalode et Walbecq.

Dans le premier modèle, il y a renouvellement continu de solvant qui épuise la matière d'oeuvre ; dans le second, on opère à température d'ébullition du solvant, c'est à dire que celui-ci se trouve dans un état de dispersion tel dans la solution savonneuse, que le maximum d'échanges pourra avoir lieu entre les deux phases liquides.

- l'appareil de MORDRET, quant à lui, réunit deux avantages :
 - . contact étroit des deux liquides à chaud
 - . élimination continu du solvant.

Actuellement, la méthode industrielle de récupération de l'insaponifiable consiste en une distillation moléculaire de l'huile, suivie d'une saponification du concentrat (26).

3.2. Analyse de l'insaponifiable.

Le fractionnement est une première étape indispensable dans un travail analytique qui se propose d'identifier et de doser les divers constituants d'un mélange complexe.

Le fractionnement de l'insaponifiable aura pour avantage de faire apparaître les différentes familles de composés groupées par similitude de polarité ou homologie fonctionnelle. Les réactions colorées, spécifiques, la spectrophotométrie infra-rouge, aideront à préciser la nature des fonctions chimiques alors qu'une technique de séparation suffisamment résolutive conduira à l'isolement de chaque constituant. C'est surtout la chromatographie sous toutes ses formes qui donnera les meilleurs résultats, alliant simplicité de mise en oeuvre, grand pouvoir séparateur, taux élevé de récupération.

Ces remarquables propriétés expliquent pourquoi elle est généralement adoptée lorsqu'il s'agit d'analyser un insaponifiable.

Cependant, quelle que soit la technique utilisée, on se heurte toujours à des difficultés de séparation provenant à la fois des faibles différences de polarité entre groupes voisins et au sein d'une même famille de constituants, à la variation continue des propriétés physico-chimiques avec l'augmentation de longueur de chaîne et l'insaturation. Etant donné la diversité de nature et de teneur des constituants de l'insaponifiable, une analyse quantitative complète fera non seulement appel à des méthodes générales mais aussi à des dosages spécifiques s'appuyant sur une réaction particulière ou une propriété caractéristique du constituant.

3.2.1. La chromatographie sur colonne (15 - 61 - 62 - 105).

L'une des premières tentatives de fractionnement sur colonne, en 1942, eut pour but d'isoler l'un des constituants de l'insaponifiable en séparant sur alumine le cholestérol contenu dans un extrait lipidique du plasma (61). Depuis, de nombreux auteurs se sont efforcés de parfaire les séparations, faisant apparaître toute la variété des constituants non-glycéridiques des corps gras, et ceci, par un choix judicieux des adsorbants, des systèmes de solvants, des conditions opératoires.

- les éluants.

Ce sont des solvants utilisés seuls ou en mélange. Ils sont choisis dans la série éluotrope, de telle sorte que leur polarité croisse régulièrement.

Ils entraîneront peu à peu les divers constituants de l'insaponifiable, depuis les substances apolaires telles que les paraffines jusqu'aux composés franchement polaires tels que les pigments hydroxylés (xanthophylles).

- les constituants des corps gras peuvent être classés par ordre de polarité croissante (105):

- hydrocarbures saturés
- hydrocarbures insaturés
- carotènes
- triglycérides

- tocophérols
- alcools gras à chaîne longue, alcools terpéniques
- alcools gras à chaîne courte
- cétones, peroxydes
- diglycérides
- monoglycérides
- acides gras à chaîne longue
- acides gras à chaîne courte.

. les solvants des corps gras peuvent être aussi classés par polarité croissante :

- cyclohexane
- hexane
- tétrachlorure de carbone
- benzène
- chloroforme
- oxyde d'éthyle
- acétate d'éthyle
- acétone
- alcool. propylique
- alcool éthylique
- alcool méthylique
- acide acétique.

Pour séparer des corps de composition voisine on utilisera des mélanges de solvants en proportions variables pour obtenir des polarités croissant progressivement.

● Les adsorbants.

Par sa nature et ses caractéristiques de granulométrie et d'activité, l'adsorbant lui-même a une importance déterminante sur le degré de séparation que l'on peut atteindre entre les différents constituants du mélange.

La granulométrie conditionne la surface spécifique de l'adsorbant qui doit être la plus grande possible afin d'offrir une capacité d'adsorption suffisante et d'augmenter le nombre des échanges. Cependant, il existe une limite inférieure à ne pas franchir pour maintenir un débit liquide suffisant.

On ne peut guère utiliser une granulométrie inférieure à 100 mesh (61).

Parmi les adsorbants, la silice, l'alumine, le fluorisil sont les plus utilisés. Nous dirons seulement quelques mots du fluorisil moins connu que les précédents.

Tout en offrant une sélectivité comparable à celle de la silice, le fluorisil n'en présente pas les inconvénients d'utilisation, ce qui explique la préférence qu'on lui accorde malgré un prix de revient assez élevé. Cependant, de récents travaux (61 - 68) portant sur l'analyse des échappées non-volatiles provenant de la désodorisation des huiles, montrent qu'il est difficile d'obtenir des fractions pures.

La chromatographie sur colonne est la méthode de choix pour une séparation fine des composants de l'insaponifiable. De plus, elle peut être utilisée dans un but préparatif car elle seule permet de travailler sur des quantités assez importantes et d'obtenir un premier fractionnement qu'il est possible de parfaire ensuite par chromatographie sur couche mince.

D'après plusieurs auteurs, l'alumine semble être l'adsorbant de choix pour parvenir à ce résultat (14 - 67 - 76 - 77 - 81). En effet, les acides gras, qui polluent l'insaponifiable des échappées, sont adsorbés sur alumine et il est pratiquement impossible de les éluier avec un mélange Ethanol-Acide acétique. Par contre, ils sont facilement élués sur colonne de silice et sortent avec les stérols.

3.2.2. La chromatographie sur couche mince (C.C.M.)

Cette technique permet une analyse qualitative et semi-quantitative. Elle est classiquement utilisée pour vérifier la pureté d'un produit élué sur colonne. Différentes variantes de la C.C.M. consistent dans des modifications d'adsorbant, d'éluants et de révélateurs.

— L'adsorbant

La silice G déposée en couche de 250 microns d'épaisseur est un adsorbant d'une application universelle en ce qui concerne les constituants mineurs des corps gras. (14 - 17 - 30 - 34 - 68). La plupart des auteurs utilisent la silice G normale ou alcaline, activée à 110° C. pendant une heure.

— Les solvants.

Différents types de solvants sont utilisés suivant les auteurs, les mélanges les plus courants sont :

- Hexane - oxyde d'éthyle (75 : 20 v/v) (68 - 69)
- Hexane - oxyde d'éthyle (60 : 40 v/v) (14 - 69)
- Hexane - acétate d'éthyle (80 : 20 v/v) (14)
- Iso octane (68)
- Benzène - acétate d'éthyle (60 : 20)
- Benzène - méthanol (80 : 20) (91)
- Chloroforme - acétone (90 : 10)
- Ether de pétrole - éther éthylique (1 : 1) (40)
- pentone - oxyde d'éthyle (80 : 20) (61 - 101)
- Ether de pétrole - benzène - acétone (40 : 10 : 1)

— Les révélateurs.

A part les caroténoïdes, les autres constituants de l'insaponifiable sont peu colorés. Certains présentent une fluorescence à l'irradiation par la lumière ultra-violette et pourront de cette façon être détectés. D'autres seront révélés au moyen d'un réactif que l'on pulvérise sur la couche mince.

Le résultat de la réaction peut être visible à froid (fixation d'iode sur les doubles liaisons), ou nécessitera le chauffage de la plaque ; ce qui conduira à la formation d'un dérivé coloré avec, en contrepartie, transformation et même dégradation par carbonisation de la molécule qui devient irrécupérable pour une analyse ultérieure.

Les réactifs utilisés sont soit non spécifiques, soit spécifiques pour une classe de constituants.

• Les réactifs non spécifiques. Les plus utilisés sont :

.. Réactif à l' Anisaldéhyde	0.5 ml
.. Réactif à l' Acide sulfurique	1 ml
.. Réactif à l' Acide acétique	50 ml.

.. Réactif de CARR et Price :

On utilise une solution saturée de Sb Cl_3 dans le chloroforme, après chauffage à 100°C pendant dix minutes.

.. Pentachlorure d'antimoine :

Sb Cl_5 — Chloroforme (1 — 4)

On utilise ce réactif, préparé extemporanément après chauffage à 120°C .

.. L'Iode

Les cristaux d'iode sont répandus au fond d'une cuve pour C.C.M. Celle-ci contient alors une atmosphère de vapeur d'iode. Après migration, les plaques sont placées dans cette cuve. L'iode se fixe par addition sur les doubles liaisons et les composés insaturés apparaissent colorés en brun.

.. Acide sulfurique :

On utilise des mélanges en proportions variables d'acide et de méthanol (5 % , 50 %)

• Réactifs spécifiques des insaponifiables (62)

* les tocophérols :

On peut les identifier et les doser grâce à leur propriété réductrice. On utilise la

réaction d'Emmeri-Engel. Après réduction des sels ferriques par les tocophérols, on fait réagir un réactif spécifique du cation Fe^{2+} . La méthode d'Emmeri-Engel, la plus utilisée, est basée sur la formation du complexe $\text{Fe}^{2+} - \alpha \alpha'$ dipyridyle dont on effectue le dosage par colorimétrie à 520 nm.

* les stérols.

On utilise la réaction de Liebermann - Buchard : les stérols en solution dans le chloroforme donnent en présence du mélange anhydride acétique - acide sulfurique concentré, une coloration verte.

* les alcools terpéniques.

Ils donnent avec le réactif de Liebermann - Buchard une coloration jaune à brune. Avec le pentachlorure d'antimoine dans le chloroforme il se développe une coloration rouge brun à brun foncé.

On peut donc identifier les constituants, soit par leur R_f par rapport à des substances étalons, soit par des colorations spécifiques.

Le tableau 10 emprunté à Mordret (62) nous donne un exemple d'identification des constituants de l'insaponifiable de Soja.

— Analyse quantitative :

Si sur la chromatoplaque la résolution entre deux tâches est complète il est alors possible d'entreprendre une analyse quantitative. De ce fait, deux types de méthodes peuvent être appliqués.

D'une part, la tâche ou la bande concernée est détachée de la plaque, on extrait la substance qu'elle contient en désorbant à l'aide d'un solvant et le dosage est effectué par gravimétrie hors de la plaque.

L'obtention de résultats précis nécessitera des dépôts plus importants et la chromatographie deviendra préparative. D'autre part, on peut mesurer in situ, par densitométrie, en ayant recours à un étalonnage, la quantité de substance présente dans la tache.

3.2.3. La chromatographie en phase gazeuse.

La chromatographie gaz - liquide est la plus utilisée des méthodes analytiques pour la séparation et l'évaluation des composés organiques de type stéroïde ou hydrocarbure. En effet, même si les différentes caractéristiques physico-chimiques des composés obtenus et de leurs dérivés sont en accord avec les données de la littérature, ils se révèlent très souvent comme étant des mélanges de plusieurs composés très voisins.

Ainsi, les stérols végétaux isolés apparemment purs à l'analyse, peuvent montrer plusieurs pics en chromatographie en phase gazeuse (1 - 28).

BANDE	Rf.	H ₂ SO ₄ Concentré	AUTRES REACTIFS	IDENTIFICATIONS
11	0.97	Gris noir		Hydrocarbures paraffiniques
10	0.93	Violet		Squalène
9	0.89	Marron	Emmeri-Engel positive bleu avec phospho- molybdate	Polymères des Tocopherols
9	0.87	Marron	Jaune - orange naturel	Caroténoïdes
8	0.65	Vert	Emmeri-Engel positive bleu avec phospho- molybdate	γ et α Tocopherols
7	0.59		Rouge bleu avec SbCl_5 Fluorescence U.V.	Plastochromanol ?
6	0.55		Emmeri-Engel positive	δ - Tocopherol
5	0.45	Marron	Jaune - rouge avec SbCl_5	Alcools terpéniques
4.	0.38	Marron		Alcools aliphatiques méthyl-sterols
3	0.28	Violet	Pourpre au SbCl_3	Sterols
2	0.24	Bleu	Jaune au SbCl_3	Δ_7 - Sténols
1	0.03	Bleu puis Brun	Naturellement jaune	Caroténoïdes hydroxyles

TABLEAU 10 : Identification des constituants du Soja (62).

● Choix d'un dérivé (105)

La chromatographie gaz - liquide porte généralement sur des dérivés qui présentent les avantages suivants :

- stabilité thermique accrue
- interaction moindre avec le support
- plus grande volatilité.

. Acétates

Ces dérivés sont stables mais leurs volatilités sont comparables à celles des composés originaux.

. Trifluoroacétates

Ces dérivés sont rapidement préparés mais sont instables : ils sont plus volatils que les composés d'origine.

. les esters de l'anhydride butyriques

. les trimethylsilylethers.

Ces dérivés sont faciles à préparer, volatils mais facilement hydrolysables.

● Choix des conditions expérimentales (77 - 105)

Ce choix est limité par les conditions suivantes :

– la basse volatilité des stérols exige des colonnes à haute température, d'où le choix d'une phase stationnaire thermostable ; sa concentration doit être faible car il y a rapidement perte de substance mais une teneur inférieure à 2 % diminue l'efficacité de la colonne.

- l'adsorbant doit être inerte chimiquement.
- l'opération doit nécessiter de faibles quantités d'échantillon
- le détecteur doit être sensible.

. Colonnes :

Elles mesurent de un à trois mètres sur quatre millimètres de diamètre et sont en verre ou en acier inoxydable.

. Phases mobiles :

Les gaz vecteurs employés sont l'azote, l'argon, l'hélium ; le débit va de 20 à 250 ml par minute.

. Adsorbant :

Les supports les plus courants sont préparés par calcination à partir de la terre des diatomées. On obtient un produit poreux léger, de couleur rose, composé de 90 % de silice. Ce produit est du Chromosorb P ou célite. Pour réduire encore les propriétés d'adsorption, une calcination en présence de carbonate de sodium produit un solide blanc plus inerte : Chromosorb W.

On peut encore citer le Gas Chromosorb Q.

Ces adsorbants peuvent être traités avant usage par le diméthylchlorosilane pour les désactiver.

Le paramètre principal caractérisant ces supports est leur granulométrie qui s'exprime en mesh : on utilise généralement des diamètres intermédiaires, de 60 (particules les plus grosses) à 120 (particules les plus fines).

. Phase stationnaire.

Le classement des solvants utilisés fait appel à plusieurs critères :

— dans le domaine des constituants d'un insaponifiable l'échelle des polarités est le système le plus utile. La polarité O est attribuée au solvant dans lequel tous les alcanes auraient un coefficient d'activité de 1.

Les composants liquides non polaires ont été les premiers utilisés

— SE 30 : silicone dimethyl substitué de polarité 7 ; celui-ci a été utilisé sur chromosorb W (80 - 100 mesh) pour analyser les stérols végétaux du type sitostérol (105).

— les graisses de silicone Apiezon L ou M

— les silicones OV - 1 , OV - 17

D'autres composants ont une polarité intermédiaire :

— SE 52 : silicone phenyl methyl substitué,

— QF 1 : dérivé trifluoropropyl methyl substitué.

Les derniers enfin sont des composés polaires :

— Diéthylèneglycol succinate (D.E.G.S.)

— Acide éthylèneglycolisophtalique (EGIP)

— Ethylèneglycol adipate (EGA)

— Polyéthylèneglycols (carbowax) (polarité 80).

. Ces phases stationnaires peuvent être également classées selon leur sélectivité (59)

– non sélectives (SE 30, Apiezones) ; élution par ordre de volatilité

– sélectives envers les groupes cétoniques et les différences stériques (QF - 1) : les composés cétoniques ont un temps de rétention augmenté et les stérols différents par leur conformation en C5 ou par l'orientation de l'OH peuvent être séparés.

– sélectives sur les groupements OH, cétoniques et les doubles liaisons (polyesters).

Sur les polyesters les stérols libres sont élués après leurs acétates.

– sélectives des doubles liaisons (SF 52) ; séparation selon le degré d'insaturation.

● Interprétation : (12 - 43 - 70 - 105)

En l'absence de groupements ayant des interactions spécifiques avec la phase stationnaire, la séparation est déterminée par la masse et la forme de la molécule. Ceci est vérifié par un hydrocarbure pour lequel le temps de rétention augmente avec le nombre de carbones de la molécule.

Dans les autres cas, le temps de rétention dépend aussi de la sélectivité de la phase stationnaire.

Pour un stérol jouera l'orientation de H en 5 (α ou β) et la configuration cis-trans.

Un OH axial rend le stérol plus mobile qu'un OH équatorial plus stable.

Une double liaison augmente la rétention par rapport aux composés insaturés. Une double liaison en 7 a un effet plus grand que celui d'une insaturation en 5.

Le temps de rétention est également influencé par la présence éventuelle d'une double liaison sur la chaîne latérale, par sa position (Δ 22 ou 24) et par les substituants voisins.

Nous résumerons dans le tableau 11 les caractéristiques principales de la chromatographie gaz - liquide concernant les constituants de l'insaponifiable séparables par cette méthode.

PARAMETRES	STEROLS et ALCOOLS TERPENIQUES	ALCOOLS ALIPHATIQUES		TOCOPHEROLS
		C5 - C18	C 18	
Température de colonne	265° C	190° C	240°C	240° C
Température de l'injecteur	310° C	230° C	280° C	290° C
Température du détecteur	210° C	210° C	210° C	210° C
Pression d'entrée du gaz vecteur	1 bar	1 bar	1 bar	1 bar
Pression d'hydrogène dans le détecteur	0.8 bar	0.8 bar	0.8 bar	0.8 bar
Quantité injectée	0.02 L	0.02 L	0.02 L	0.05 L
Transformation	Ethers ou Acétates	Acétylation	Acétylation	Aucune

TABLEAU 11 : Chromatographie en phase gazeuse de l'insaponifiable (105)

A côté de la chromatographie en phase gazeuse, il existe d'autres méthodes d'identification et de dosage des constituants de l'insaponifiable.

3.2.4. Les paramètres physiques.

— Point de fusion : on utilise le microscope à plaque chauffante de KOFFLER ou l'appareil automatique de METTLER (99)

— Pouvoir rotatoire : on mesure le pouvoir rotatoire sur des solutions de concentrations connues dans le méthanol ou le chloroforme.

3.2.5. La spectrographie.

— Le spectre infra-rouge permet l'analyse des groupements fonctionnels d'une molécule, en particulier les hydroxyles, les carbonyles.

— Le spectre ultraviolet :
les bandes d'absorption de ces spectres sont liées à la présence dans la molécule d'une insaturation.

— Le spectre de masse :
le dernier renseigne sur la masse moléculaire d'un composé et sur sa fragmentation.

3.2.6. Dosage des stérols par précipitation à la digitonine.

C'est le dosage le plus utilisé pour les phytostérols (39). La digitonine forme un produit d'addition très peu soluble avec les stérols hydroxylés en position 3.

Le complexe obtenu, formé de quantités équimoléculaires de stérol et de digitonine est couramment appelé digitonide. La quantité de stérols inclus est retrouvée en multipliant le poids de digitonide par un facteur de correction qui est de 0,256 pour les sitostérols.

3.2.7. Dosage des stérols par colorimétrie (39).

La méthode colorimétrique de dosage des phytostérols est réalisée après séparation quantitative préalable de ces substances par chromatographie préparative. Les stérols sont récupérés après grattage du chromatoplaque par extraction avec de l'éther éthylique ou par élution en microcolonne à l'aide du même solvant. La détermination colorimétrique peut se faire soit par la réaction de Liebermann - Burchard, soit avec la réaction à l'acide sulfosalicylique cette dernière étant utilisée par la détermination des zoostérols dans le sang.

Cette méthode permet de déterminer les stérols totaux. Pour déterminer les stérols libres et les stérols estérifiés, il faut effectuer la détermination parallèle des stérols totaux et des stérols libres après les avoir séparés sur colonne d'alumine en utilisant successivement comme éluant le tétrachlorure de carbone pour les stérols totaux et le chloroforme pour les stérols libres. La différence entre stérols totaux et stérols libres donnera les stérols estérifiés.

La colorimétrie tend de plus en plus à remplacer le dosage à la digitonine, ce dernier étant une méthode longue, nécessitant l'emploi de réactifs coûteux et s'avérant inapte à des essais en série.



DEUXIEME PARTIE



LES ECHAPPEES DE DESODORISATION

Les sous-produits que nous avons étudiés sont communément désignés par le terme un peu sibyllin pour le profane "d'échappées de désodorisation des huiles". Il convient donc de définir ces "échappées" par leur origine, leur nature, leur aspect.

I – ORIGINE, NATURE et COMPOSITION

1. Origine des échappées.

La plupart des huiles végétales sont inconsommables à l'état brut. L'huile d'arachide par exemple, a un goût de cacahouète fraîche, l'huile de soja présente une saveur de haricot, l'huile de colza sent le chou. Or, la commercialisation des huiles exige que celles-ci présentent certaines qualités organoleptiques.

De plus, ces huiles doivent avoir une durée suffisante de conservation, et ne pas rancir au cours du temps.

Les huiles végétales possèdent des antioxygènes naturels qui les protègent mais elles contiennent aussi des pro-oxygènes qui accélèrent l'attaque due à l'oxygène de l'air.

Parmi ces prooxygènes figurent les traces métalliques et surtout les acides gras libres.

Ces derniers se forment sous l'action d'enzymes lipolytiques qui hydrolysent les triglycérides au moment de l'extraction et qui peuvent être particulièrement actifs dans certaines conditions favorables.

Les acides gras libres, beaucoup plus oxydables que les triglycérides, peuvent jouer le rôle d'initiateurs d'autoxydation et provoquer le rancissement rapide de l'huile.

Toutes les exigences de la fabrication industrielle des huiles imposent donc la nécessité du raffinage.

1.1. Le raffinage des huiles (3) (57)

Le mode opératoire, classique, comporte un traitement graduel de l'huile brute en plusieurs étapes dont la démucilagination, la neutralisation, le blanchiment, et enfin la désodorisation.

1.1.1. La démucilagination.

Cette opération provoque l'élimination des phosphoaminolipides, des composés albuminoïdes, des composés apparentés au sucre, donc des matières mucilagineuses même si elles sont dissoutes à l'état colloïdal.

La démucilagination, encore appelée “dégommage”, s’effectue avec de l’eau à 70 - 80° durant 45 minutes, en marche discontinue.

Pour effectuer une démucilagination plus complète on opère le plus souvent en présence d’acide phosphorique ou d’alcaliphosphates acides.

Les phosphoaminolipides, ou phosphatides, et les composés apparentés trouvent une large application dans la fabrication de la margarine et des médicaments.

La majeure partie de ces composés est déjà séparée de l’huile brute au cours de l’extraction. L’élimination des quantités restantes est souhaitable car ces composés sont susceptibles d’exercer des effets défavorables sur les caractères organoleptiques : troubles par précipitation entre autres.

Dans les huiles destinées au durcissement, l’élimination complète est impérative car ils constituent des poisons pour le catalyseur d’hydrogénation et empêchent ou bloquent totalement l’hydrogénation.

L’opération de démucilagination a également pour but de faciliter les opérations ultérieures, c’est à dire la neutralisation où il est essentiel de réduire au maximum les pertes en huile neutre entraînée, et surtout, la désacidification en continu où il est essentiel d’éliminer complètement les mucilages pour éviter l’encrassement des appareils.

1.1.2. La neutralisation.

Elle a pour but d’éliminer les acides gras libres sous forme d’un précipité de savons alcalins appelé SOAPSTOCK ou encore “pâtes de neutralisation”. A cet effet, on traite l’huile démucilaginée par une lessive de soude caustique et, éventuellement, par addition de carbonate de sodium. On opère entre 70° et 90° C et l’opération peut durer de 15 minutes à deux heures.

La neutralisation est suivie de lavages de l’huile par des solutions salines, puis par de l’eau pure, dans le but d’éliminer les traces de savons. Ensuite a lieu le séchage de l’huile, opération essentielle avant la décoloration ou la désacidification. A cet effet, on chauffe l’huile sous un vide de 100 mm de mercure à 90 - 100° C. On utilise actuellement des appareils à ruissellement et l’opération dure de 30 à 40 minutes. A ce stade, on ajoute souvent un peu d’acide citrique qui joue le rôle de synergique des antioxygènes. Il est à noter qu’au cours de leur formation, les savons alcalins entraînent par adsorption une partie des autres constituants, en particulier des matières colorantes et certains composés de l’insaponifiable. On obtient ainsi, au cours de cette étape, un éclaircissement considérable de la couleur et une diminution de la teneur de l’huile en insaponifiable. Cela est particulièrement apparent dans l’huile de coton qui, brun foncé à l’état brut, prend après neutralisation une couleur jaune d’or. Par contre, une neutralisation conduite avec soin laissera intacts les caroténoïdes. Enfin, certains produits primaires de l’autoxydation, notamment les hydroperoxydes et d’autres peroxydes aussi, tels qu’on les rencontre dans l’huile brute, se décomposent sous l’effet du traitement alcalin.

1.1.3. La désacidification.

Il s'agit d'une neutralisation physique. Cette méthode s'est développée parallèlement avec l'introduction des procédés en continu. L'élimination des acides gras a lieu par évaporation ou distillation en présence de vapeur d'eau surchauffée. On opère sur film mince, sous un vide de quelques millimètres de mercure et à température élevée (220 - 240° C).

L'opération a l'avantage de ne nécessiter aucun réactif chimique. Elle se confond en outre avec la désodorisation. Elle a l'inconvénient d'imposer un dégommage parfait des huiles pour éviter l'encrassement des surfaces de contact.

1.1.4. Le blanchiment ou décoloration.

Le rôle du blanchiment est d'éliminer les matières colorantes indésirables qui sont en partie inhérentes à l'huile brute, mais qui se sont aussi formées ou introduites au cours de l'extraction et du stockage.

Ce sont, en premier lieu, des pigments brun-jaunâtres, le plus souvent de structure inconnue, et la chlorophylle ainsi que ses produits de décomposition.

Au cours de ce traitement une partie des caroténoïdes est également éliminée.

Comme agents de blanchiment, on emploie des matières adsorbantes, terres naturelles et activées ainsi que des charbons actifs. Le blanchiment chimique des huiles alimentaires est, actuellement, complètement abandonné.

L'effet des agents adsorbants mentionnés ne se limite pas aux seules matières colorantes, mais s'exerce aussi vis à vis des restes de savons, des matières mucilagineuses encore présentes ainsi qu'à l'encontre des traces de métaux lourds. Enfin, durant cette phase, il se produit une nouvelle diminution des composants insaponifiables.

L'opération la plus courante se fait sous agitation par une terre activée acide, plus rarement par du charbon actif, quelquefois par un mélange de ces deux adsorbants. L'opération en marche discontinue, dure de vingt à quarante minutes. On opère sous un vide de 100 mmHg à des température de 80 à 120° C. L'huile est ensuite filtrée sur une couche de terre de diatomées, au filtre-pressé ou au filtre sous-pression.

Dans le cas où l'élimination des acides gras libres est réalisée par voie physique, en utilisant leur plus grande volatilité en présence de vapeur d'eau, l'ordre des opérations est inversé et la décoloration a lieu avant la neutralisation dans le but d'obtenir une huile aussi épurée que possible au moment du passage dans les appareils de désacidification.

1.1.5. La désodorisation (87 - 93).

— Sa nécessité.

Cette opération constitue le stade ultime du cycle de purification que subissent la

plupart des corps gras destinés à l'alimentation. Elle a pour but d'éliminer les produits sapides qui donnent aux huiles un goût plus ou moins prononcé et qui proviennent de leur saveur sui generis ou d'un début d'oxydation. En effet, les dégradations inévitables, hydrolytiques et oxydatives, qu'ont subies les huiles brutes, altèrent considérablement leurs qualités organoleptiques. De plus, les premiers stades du raffinage - neutralisation et décoloration - ainsi que les traitements tels que l'hydrogénation (parfois effectués) sont susceptibles de provoquer également la transformation des constituants mineurs préexistants et celle des produits d'oxydation, aussi bien des chaînes grasses elles-mêmes que des divers composants de l'insaponifiable. Aux composants du "bouquet" naturel de l'huile vont donc se surajouter de multiples corps sapides et odorants modifiant de façon défavorable la flaveur. La désodorisation s'impose pour obtenir les corps gras "plats" que recherche le consommateur.

— Les composants odorants.

La nature exacte des composants responsables de la flaveur naturelle des corps gras, leurs proportions respectives, sont assez mal connues.

Les produits responsables de la flaveur rance ont fait, dans le cadre des recherches sur l'autoxydation, l'objet de multiples études (37 - 48 - 58 - 80 - 93). On a pu identifier certains de ces composés, pour la plupart des aldéhydes et des cétones. Certaines cétones, notamment les méthylnonylcétones et les méthylundecylcétones ont été retrouvées dans l'huile de coco, de palme et dans le beurre de cacao. On a également identifié le caractère odoriférant de certains hydrocarbures terpéniques dans les distillats de désodorisation de l'huile de coton, de noisettes et de tournesol. Le n - déca - 2,4 - diénal a été reconnu comme le composant majeur des distillats de désodorisation de l'huile de soja. C'est un des principaux composés carbonylés qui se forment lors de la décomposition à chaud du méthyl linoléate, en présence de traces d'eau (93).

— Mode opératoire.

Lors du processus de désodorisation des huiles, on joue sur la différence de volatilité entre les triglycérides et les substances odoriférantes. Cette opération est réalisée à haute température et sous pression réduite, ce qui a pour effet d'augmenter la volatilité des substances odoriférantes. L'application de la pression réduite protège l'huile chaude de l'oxydation atmosphérique, prévient une hydrolyse de l'huile par la vapeur d'eau et diminue la quantité de vapeur requise. En effet, la vapeur d'eau est nécessaire car, ni la haute température ni le vide, ne suffisent à assurer la distillation des produits volatils.

Il faut donc réaliser une distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

Un phénomène supplémentaire intervient alors : dans les conditions opératoires jugées nécessaires pour réaliser une désodorisation suffisante d'autres produits non odorants et non sapides deviennent suffisamment volatils pour être entraînés. Il s'agit d'abord des acides gras libres, toujours présents dans l'huile à désodoriser même si celle-ci a, au préalable, été neutralisée par un agent alcalin, et qui peuvent également prendre naissance par hydrolyse au cours du traitement désodorisant. Les stérols et autres insaponifiables sont pour la plupart moins volatils que les acides gras libres mais ils sont également entraînés au cours de la distillation. Une désodorisation sévère, à très haute température, peut réduire le contenu

insaponifiable d'une huile telle que l'huile de soja de 60 p 100 au moins (50 - 87).

Les glycérides sont beaucoup moins volatils que les autres constituants du corps gras, mais comme ils constituent la presque totalité de l'huile, ils sont entraînés en quantité appréciable. Comme les triglycérides ont des pressions de vapeur très basses, il est probable que les mono et diglycérides, soit préformés soit produits par hydrolyse, représentent la majeure partie des pertes d'huile au cours de la distillation.

Les produits éliminés au cours de la désodorisation sont donc des mélanges complexes dans lesquels on peut distinguer deux grandes catégories de composés, selon qu'à température ordinaire et pression ambiante ils sont ou totalement volatils et éventuellement hydrosolubles, ou non-volatils et insolubles dans l'eau. Il s'ensuit que l'on peut recueillir à la sortie des désodoriseurs, sur les bacs de condensation des colonnes barométriques ou par piégeage dans un appareil spécial, une phase grasse appelée "échappées de désodorisation" ou "écumes de désodorisation" ou "condensats de désodorisation", dont la qualité absolue et la composition dépendent à la fois de la nature, de la qualité de l'huile traitée, et des conditions de désodorisation.

Toutes les études qui ont été faites à ce sujet concordent pour indiquer que ce sont des mélanges d'acides gras libres, de glycérides et de composés insaponifiables libres. Les échappées sur lesquelles nous avons travaillé sont de trois sortes :

- échappées de Soja
- échappées de Maïs
- échappées du mélange Arachide - Tournesol.

Comme nous venons de le voir, leur composition va dépendre à la fois des huiles d'origine et du procédé de désodorisation.

1.2. Caractéristiques des huiles d'origine (55 - 56)

1.2.1. L'huile de Soja.

Le Soja a son origine en Asie. En Chine, la culture et l'usage du soja remontent à des temps très anciens et c'est peut être pourquoi la pointe septentrionale du YESO est appelée CAP SOYA. Au 19^e siècle, en Europe et en Amérique, le soja n'était encore qu'une curiosité botanique.

Il ne fut introduit en Amérique qu'en 1804, comme culture accessoire fourragère. En 1908, dans l'ouest et le nord des Etats-Unis, le soja fut exploité à des fins alimentaires pour la production d'huile. Actuellement, le soja est toujours cultivé en Asie, mais les forts tonnages exportés sur l'Europe proviennent essentiellement des Etats-Unis. Toutefois, l'huile de Soja ne présente pas exclusivement des qualités alimentaires et certains éléments la constituant ont un très grand intérêt pharmacologique. Ces éléments se retrouvent groupés dans l'insaponifiable qui se caractérise par le pourcentage le plus élevé en stigmastérol des huiles végétales.

1.2.2. *L'huile de Maïs*

Le Maïs encore appelé “blé de Turquie” ou “blé de l’Inde” ou “blé d’Espagne” aurait son origine en Amérique du Sud. Il était la seule céréale cultivée sous l’empire des Mayas et des Aztèques lors de la découverte de l’Amérique. Il fut importé en 1520 en Espagne puis a rayonné dans toutes les régions de l’Europe où la température estivale est au moins égale à 22° C. Actuellement, les principaux producteurs sont les USA, le Brésil, l’Argentine. Cependant, l’huile de maïs qui provient de la trituration des germes est un produit cher.

Les disponibilités en maïs sont peu importantes : en effet, la culture du maïs n’a pas comme motivation première la production de l’huile.

C’est une huile à caractère diététique contenant une forte proportion d’acides gras essentiels et qui de plus est une des huiles les plus riches en tocophérols.

1.2.3. *L'huile d'Arachide.*

La graine d’arachide fut apportée en Europe par les Espagnols qui la découvrirent au Pérou où elle était consommée bouillie ou crue par les indigènes.

Les premières huileries européennes virent le jour près de Valence, au 19^e siècle.

L’arachide est actuellement implantée au Nigeria, au Sénégal, au Niger, en Afrique du Sud et en Argentine. L’Inde, la Chine, les U.S.A. sont également de gros producteurs mais la récolte est pratiquement consommée sur place. Pour des raisons politiques, climatiques et commerciales, les récoltes d’arachide ont diminué considérablement d’où une situation de pénurie qui a eu pour conséquence une augmentation importante des prix.

L’huile d’arachide est un des meilleurs corps gras connus sur le plan nutritionnel : l’équilibre des acides gras est satisfaisant. De plus, c’est une huile qui se conserve particulièrement bien et supporte de très hautes températures.
(les tableaux récapitulant les caractéristiques principales de ces huiles figurent en annexe).

2. Composition des Echappées (75).

2.1. *Nature des composants* (68 - 69)

Toutes les données de la littérature s’accordent à les définir comme des mélanges complexes de multiples composés appartenant à des classes différentes et que l’on peut regrouper en :

— composés saponifiables :

Acides gras libres
Triglycérides
Glycérides partiels
Cires
Esters méthyliques.

– Composés insaponifiables :

Stérols libres
Hydrocarbures paraffiniques, oléfiniques, polyoléfiniques
Alcools triterpéniques
Alcools gras
Tocophérols.

– Produits d'oxydation, et ce, dans une proportion approximative moyenne de :

30 % de Glycérides
30 % d'acides gras libres
30 % d'insaponifiables.

L'insaponifiable, constant dans sa composition, est spécifique de l'huile dont il est extrait, les glycérides, au contraire, sont communs à toutes les huiles et ne varient que par leurs pourcentages respectifs.

C'est pourquoi, grâce aux techniques modernes d'analyse, on peut différencier les huiles par l'étude de leurs insaponifiables, ce qui permet de déceler les fraudes éventuelles (43)

2.2. Etat et proportion des constituants principaux.

Le raffinage d'une huile aboutit donc à l'obtention d'un concentrat d'insaponifiables. Mais on peut se demander dans quel état sont recueillis ces constituants et quel peut être leur degré de dégradation au cours du raffinage.

2.2.1. Tocophérols.

Les tocophérols sont retrouvés en quantité importante dans les échappées, bien qu'au cours de la désodorisation, les pertes d'une huile en tocophérols soient relativement considérables puisqu'évaluées en moyenne à 20 %.

Toutefois, les spécialistes qui ont examiné le devenir des tocophérols au cours des opérations de raffinage sont affirmatifs : "Les tocophérols subissent à peu près sans dommage les opérations de raffinage" (30 - 79).

2.2.2. Les stérols.

On ne peut aborder le problème des stérols sans faire état des nombreux travaux de Naudet et ses collaborateurs (66 - 67 - 68 - 69).

Ces auteurs ont comparé la fraction "stérols" des échappées de désodorisation à celle des stérols totaux de l'huile.

Ils constatent que la teneur en stérols totaux des échappées est vingt fois supérieure à celle des huiles dans le cas des huiles de colza et d'arachide, de dix fois plus grande pour

l'huile de Soja. Cependant, compte tenu du faible pourcentage des échappées par rapport à l'huile, les stérols recueillis ne représentent qu'une faible partie des stérols présents dans les huiles soumises à la désodorisation (Tableau 12).

HUILES	Stérols totaux (g) dans 1000 g d'huile Désodorisation	
	AVANT	APRES
ARACHIDE	2.0	1.9
COLZA	4.5	4.4
SOJA	3.4	3.2

	Poids d'échappées pour 10.000 g d'huile (en g)	Stérols totaux (g) dans 100 g d'échappées
ARACHIDE	14.2	3.9
COLZA	11.3	8.5
SOJA	14.3	4.2

TABEAU 12 : Teneurs en stérols des huiles et des échappées de désodorisation. (Naudet - Cecchi - 69).

Ces résultats expliquent pourquoi les teneurs en stérols des huiles désodorisées sont peu différentes de celles de huiles non désodorisées.

D'autre part, la composition des stérols totaux des échappées est différente de celle des stérols totaux des huiles correspondantes. On note, dans tous les cas, un enrichissement en stérols de poids moléculaires les plus faibles (compéstérol) et une diminution du stérol de poids moléculaire le plus élevé (Tableau 13).

HUILE DE SOJA	Stérols (g pour 100 g de stérols totaux) contenus dans :		
	DESODORISATION		ECHAPPEES
	AVANT	APRES	
CAMPESTEROL	21.6	21.5	36.6
STIGMASTEROL	14.9	14.8	22.8
SITOSTEROL	63.5	63.7	50.6

TABLEAU 13 : Composition des stérols totaux du Soja (Naudet - Cecchi - 69).

Dans les échappées, les stérols sont présents presque exclusivement sous forme libre : Dans les huiles, ils sont présents à la fois sous forme libre et sous forme estérifiée par des acides gras. Les différences de poids moléculaire sont telles entre les deux formes qu'on peut penser que seuls les stérols libres sont entraînés au cours de la désodorisation.

Si l'on considère les résultats fournis par l'analyse chromatographique en phase gazeuse, on constate que les acétates de campestérol et stigmastérol ont des comportements similaires, ce qui signifie qu'ils ont des volatilités quasi-identiques, tandis que l'acétate de bêta sitostérol plus retardé, a une volatilité moindre. Les volatilités dépendent des poids moléculaires, mais aussi des associations moléculaires que le soluté peut contracter avec la phase fixe et on peut penser que dans le cas du couple acétate de campestérol - acétate de stigmastérol, ce soit ce dernier facteur qui prédomine. En conséquence, les différences de concentration entre stérols libres de l'huile et stérols libres des échappées ne s'expliqueraient pas uniquement en termes de poids moléculaires, mais aussi en termes d'associations moléculaires, stérols-triglycérides.

Cette libération de stérols est probablement la raison pour laquelle l'insaponifiable des échappées est actif alors que l'huile dont il est issu n'a pratiquement pas d'activité pharmacologique.

2.2.3. Les acides gras libres.

D'après les mêmes auteurs (34 - 67) on ne voit apparaître aucune différence sur le plan qualitatif entre l'huile d'origine et les échappées : tous les acides gras de l'huile sont présents dans les acides gras libres des échappées.

Cependant sur le plan quantitatif, on constate un enrichissement des échappés en acide palmitique et un appauvrissement en termes les plus lourds C 18 : 1 et C 18 : 2, principalement pour les huiles de soja et d'arachide.

On peut donc dire que l'hydrolyse, qui survient au cours de la désodorisation et conduit à la formation de la majeure partie des acides gras libres trouvés dans les échappées, n'est pas sélective, et que, seules interviennent les différences de volatilité entre les divers acides gras.

II – ETUDE ANALYTIQUE DES ECHAPPEES

– Obtention.

Notre étude a porté sur les échappées de Soja, Maïs et Arachide -Tournesol, obtenues de la manière suivante :

l'huile démulcinée, neutralisée, blanchie, lavée et filtrée, est ensuite désodorisée, de manière discontinue, dans un récipient florentin. La désodorisation se fait sous vide, avec injection de vapeur à 3 kg de pression et à une température de 220 - 230 ° C. La durée de l'opération est, pour un lot de quinze tonnes d'huile brute, par exemple, de six heures.

Les échappées non volatiles sont recueillies au bas de la colonne barométrique. Les substances volatiles sont évacuées dans l'atmosphère par les échappements des appareils de production de vide. La partie condensable est envoyée dans une "batteuse" où elle est chauffée à 90° C sous agitation. Au refroidissement, il se produit une décantation en deux phases :

- la phase inférieure, aqueuse, est soutirée.

- la phase supérieure, grasse, est récupérée et stockée. Elle contient les échappées de désodorisation riches en insaponifiables.

– Caractères organoleptiques.

En traitant quinze tonnes d'huile brute on récupère, par ce procédé, sept kilos d'échappées. Ces dernières ont une consistance pâteuse, une couleur brun foncé, un aspect hétérogène.

Elles se présentent comme une masse formée par la superposition de plusieurs couches grasses, de couleur plus ou moins foncée, se caractérisant par une très forte odeur sui generis.

A priori, les caractéristiques organoleptiques sont différentes pour les trois variétés d'échappées. Celles d'arachide se présentent mieux (moins brunes et moins nauséabondes) que celles de maïs qui sont elles-mêmes supérieures à celles de soja.

– Prélèvement de l'échantillon moyen.

Au niveau de l'analyse physicochimique d'une substance, qu'il s'agisse d'une analyse fine ou d'un contrôle de routine, le problème majeur réside dans la constitution d'un échantillon moyen le plus représentatif possible du lot auquel il appartient.

Il faut à ce point préciser que dans l'industrie huilière la quantité ou tonnage d'une huile raffinée constitue ce que l'on appelle une "tranche" de fabrication.

Les échappées non-volatiles recueillies à la fin de la désodorisation sont stockées dans des fûts qui constituent, eux, les différents "lots" d'une même tranche.

Donc à une tranche donnée d'une huile raffinée correspondent plusieurs lots d'échappées.

En conséquence, il est bien évident que la composition et les caractères organoleptiques des échappées varient du début à la fin de la désodorisation.

Des variations se manifestent parmi les lots d'une même tranche, entre plusieurs tranches d'une même huile, et, à fortiori, lorsque des huiles de même nature ont des origines différentes.

Comme nous l'avons vu, les échappées, une fois refroidies, ne constituent plus une masse homogène. Si l'on considère la composition globale des échappées (30 % de glycérides, 30 % d'acides gras libres, 30 % d'insaponifiables), cette hétérogénéité ne surprend pas.

Du fait de cette hétérogénéité, le prélèvement et la constitution d'un échantillon moyen revêtent un caractère très important. Le prélèvement se fera donc, dès la récupération des échappées à chaud, à la sortie du désodoriseur et après agitation de la masse huileuse liquide.

L'étude physicochimique sera effectuée à la fois sur le prélèvement de chaque lot d'échappées homogénéisées et sur un échantillon moyen correspondant à une tranche.

— Composition.

Les analyses effectuées en corrélation avec le fabricant sur 20 Lots ou 5 tranches témoignent de la forte concentration en insaponifiables de ces échappées (Tableau 14).

	ARACHIDE	SOJA	MAIS
Indice d'acide	29	41	76
% Cendres	1.82	2.22	3.76
% Eau	14.3	1.2	3.6
Indice de Saponification	44.7	99.1	110
% Insaponifiables	45.9	28.3	24.6
% Stérols	5.9	9.6	9.6
% Tocophérols	Traces	3.6	0.9

On constate ici des taux d'humidité relativement importants qui sont dûs à une séparation délicate, entre les phases aqueuse et grasse, dans la "batteuse". Les chiffres indiqués dans le Tableau 14 sont des chiffres moyens et nous avons pu constater au cours de ce travail d'importantes variations de composition suivant les lots d'huile travaillée. Il sera donc difficile d'obtenir un produit de composition constante et l'on devra envisager des mélanges au cas où ces échappées pourraient être utilisées telles quelles.

Malgré toutes ces imperfections on ne peut nier l'intérêt que représentent ces sous-produits par leur richesse en insaponifiables. Ils méritaient donc une étude analytique plus poussée, que nous avons entreprise, de façon systématique, sur plusieurs lots d'une même tranche d'huile.

1. Caractéristiques analytiques du produit brut.

1.1. *Caractéristiques physiques.*

1.1.1. *Solubilité.*

Les échappées de désodorisation des huiles de soja, Maïs et Arachide ont les caractéristiques de solubilité suivantes :

- insolubles dans l'eau, elles forment par agitation, même avec de l'eau froide, une très belle émulsion blanche et stable.
- partiellement solubles dans l'éthanol et l'hexane (20 %)
- solubles dans les huiles et le benzène (50 %)
- très solubles dans le chloroforme (100 %)

1.1.2. *Indice de réfraction.*

Il est identique pour les échappées de Soja, Maïs et Arachide :

$$n_D^{65} = 1,4430 \text{ à } 1,4620$$

1.2. *Caractéristiques chimiques.*

Les caractéristiques chimiques ont été établies après analyse de plusieurs lots d'échappées d'une même tranche d'huile de Soja, de Maïs et d'Arachide.

1.2.1. Protocoles.

Les déterminations chimiques mettent en jeu des propriétés particulières dépendant de la nature et des pourcentages des différents constituants du corps gras. Certains de ces indices ont une stabilité suffisante pour être considérés comme caractéristiques du corps considéré.

– Acidité libre.

Au lieu de l'indice d'acide, nous calculerons l'acidité libre qui est fonction de la teneur en acides gras libres.

– Définition : l'acidité d'un corps gras se mesure par la quantité d'acides gras libres exprimés en acide oléique existant dans 100 g de corps gras.

– Méthode : celle de la Pharmacopée.

– Indice de saponification.

– Intérêt : il dépend de la teneur en insaponifiables, en acides gras libres et de la proportion de mono - di - et triglycérides.

– Définition : c'est le nombre de mg de potasse nécessaires pour saponifier 1 g de corps gras.

Il est généralement compris entre 90 et 200.

– Méthode : Pharmacopée.

– Indice d'iode.

– Principes : les doubles liaisons des acides gras insaturés sont capables de fixer un halogène par addition. On peut ainsi exprimer le degré d'insaturation d'un corps gras par la quantité d'iode qu'il peut fixer.

– Définition : c'est le nombre de grammes d'iode pouvant être fixé par addition dans des conditions déterminées sur 100 g de matière grasse.

– Méthode : il existe principalement deux techniques :

. méthode de WIJS au chlorure d'iode

. méthode de HANUS au bromure d'iode (Pharmacopée)

Nous avons utilisé la méthode de WIJS.

– Indice de peroxydes.

– Principe le phénomène d'oxydation, mettant à profit l'existence de doubles liaisons, donne d'abord lieu à la formation de peroxydes.

Une huile dont l'indice de peroxydes est supérieur à 8 est considérée comme rance. Cependant, des huiles très oxydées peuvent avoir des indices de peroxydes très faibles.

En effet, les peroxydes peuvent se détruire, ou plus exactement, se transformer en donnant naissance à des composés secondaires d'oxydation (hydroperoxydes).

– Définition : c'est le nombre de microgrammes d'oxygène actif fixé sous forme peroxydique sur 1 gramme de matière grasse.

– Méthode : on utilise la méthode iodométrique à froid.

1.2.2. Résultats.

Les valeurs moyennes, obtenues à partir de 30 lots de chacune des huiles, sont les suivantes :

INDICES	SOJA	MAIS	ARACHIDE
Acidité %	35	38	29
Indice de saponification	120	145	125
Indice d'iode	89	70	66
Indice de peroxydes en mEq/Kg	8	3	2.9

Ces valeurs indiquent une forte acidité, prévisible, et un indice de peroxyde particulièrement élevé pour les échappées de Soja expliquant leur odeur de rance très accentuée. L'indice d'iode est pratiquement le même que celui des huiles d'origine.

1.3. Comportement physicochimique : chromatographie sur couche mince.

1.3.1. Protocole.

Après homogénéisation des échappées et solubilisation dans une quantité minimum d'hexane, on réalise une séparation assez grossière des différents constituants des échappées.

. on utilise comme support la silice G normale et différents mélanges solvants :

- a) Benzène - acétate d'éthyle (60 : 20)
- b) Hexane - oxyde d'éthyle (90 : 10)
- c) Hexane - oxyde d'éthyle (50 : 50)
- d) Benzène - méthanol (60 : 20).

. Révélateurs :

- . Acide sulfurique dilué au demi
- . Réactif à la para - anisaldéhyde (82) :
 - Para - anisaldehyde : 0,5 ml
 - Acide sulfurique : 1 ml
 - Acide acétique : 50 ml

1.3.2. Résultats.

Avec le mélange(a) on obtient uniquement 3 spots. Les mélanges(b)et(d) donnent 7 spots identiques pour les échappées de Soja, de Maïs et d'Arachide. Le mélange C donne la séparation la plus fine et la meilleure (fig. 1)

Les Rf des différents spots et leur identification sont consignés dans le tableau 15.

Cependant, l'examen analytique du produit brut ne fournit que des renseignements globaux. Il est donc nécessaire de procéder à un fractionnement des échappées afin d'obtenir une analyse plus fine.

2. Fractionnement des échappées de désodorisation.

Le but de ce fractionnement est principalement l'isolement et la mise en évidence de constituants nous intéressant pour la suite de ce travail et qui sont les stérols.

Ces stérols peuvent être isolés selon deux types de procédés :

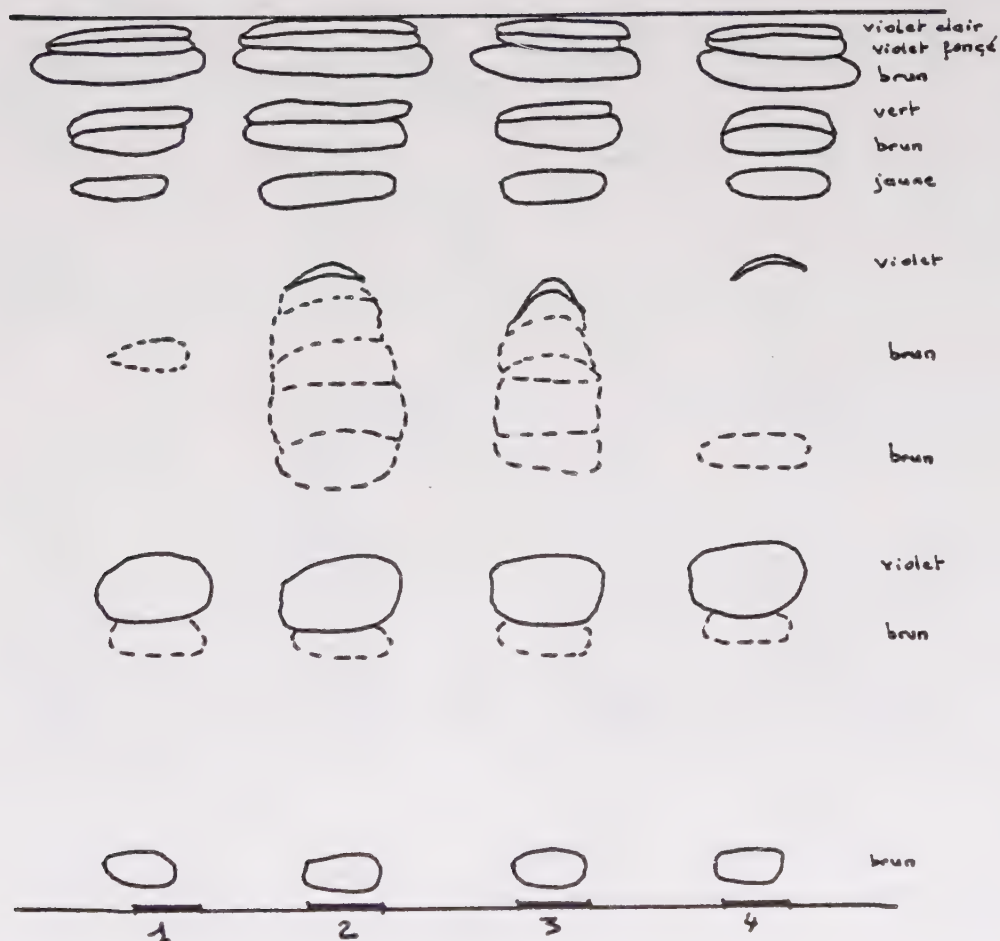
- . soit par fractionnement direct du produit brut
- . soit par isolement de l'insaponifiable et séparation ultérieure des stérols.

Le premier procédé donnera lieu à une étude analytique qualitative, le second à une étude quantitative.

fig 1 : CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE
DES ECHAPPEES

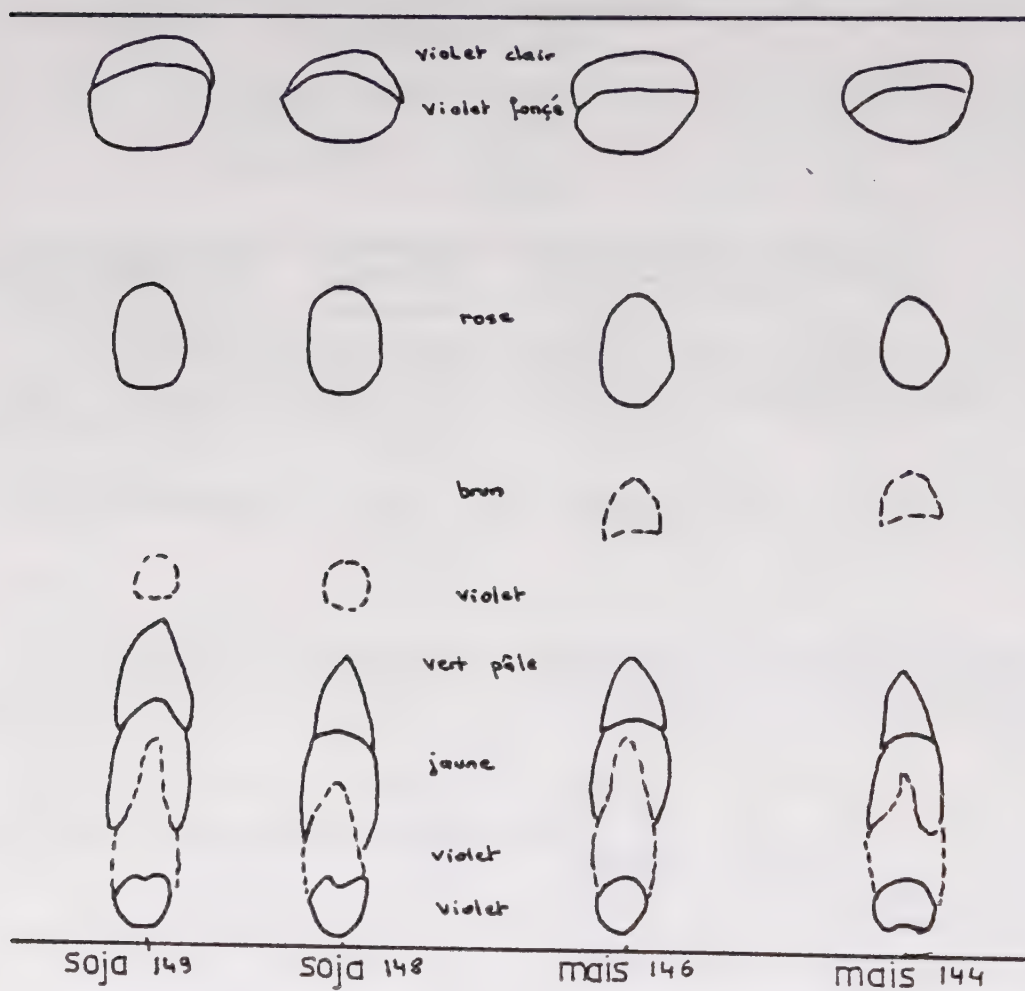
I solvant : h xane - oxyde d'éthyle 50 : 50

reveleateur : H_2SO_4



1	Arachide	Lot 143
2	Soja	162
3	Soja	159
4	Mais	198

II solvant : hexane — oxyde d'éthyle 90:10
 revelateur : H_2SO_4



III solvant : benzene - acétate d'éthyle 60:20
révélateur : P-anisaldehyde

○ rose R_f : 0.90

○ Jaune 0.74

○ violet 0.36

maïs = 144
= 145
= 146

TABLEAU 15 : Rf. et Caractérisation des principaux constituants des Echappées

Révélateur	Rf.	SOJA	MAIS	ARACHIDE	IDENTIFICATIONS
	0.98	Violet clair	id	id	HYDROCARBURES SATURES
	0.96	Violet foncé	id	id	HYDROCARBURES INSATURES
	0.94	Marron	id	id	TRIGLYCERIDES
	0.88	Vert	id	id	TOCOPHEROLS
	0.86	Marron	id	id	DIGLYCERIDES
	0.81	Jaune	id	id	CAROTENOIDES
	0.72	Violet	—	id	?
	0.69	Marron	—	—	ALCOOLS TRITERPENIQUES
	0.66	Marron	—	—	
	0.62	Marron	—	—	
	0.60	—	Marron	—	
	0.56	Marron	—	—	ALCOOLS GRAS
	0.53	Marron	—	Marron	
	0.50	—	—	Marron	STEROLS
	0.35	Violet	id	id	
	0.29	Marron	id	id	
	0.03	Jaune	id	id	GLYCERIDES PARTIELS ? PIGMENTS POLAIRES

(Les identifications ont été faites par comparaison avec les données de la littérature)

2.1. *Isolement des stérols à partir du produit brut.*

2.1.1. *Procédé d'obtention.*

– Principe.

Après passage sur colonne d'alumine qui retient les acides gras libres, on élue par des mélanges solvants convenables. Chaque fraction est alors testée par chromatographie sur couche mince. Les fractions se révélant identiques à l'analyse sont regroupées, concentrées à chaud et cristallisent par refroidissement.

– Mode opératoire :

Les premiers essais ont été réalisés sur l'huile de maïs. Cinq grammes d'échappées de désodorisation de l'huile de Maïs sont dissous dans une petite quantité de chloroforme et mélangés à 250 grammes d'alumine. La pâte obtenue est séchée à l'étuve pendant une nuit.

D'autre part, on remplit une colonne de verre, de 1,50 mètres de long et de 5 cm de diamètre, de 360 grammes d'alumine. Le produit desséché à l'étuve est introduit au sommet de la colonne qui a été au préalable remplie d'hexane.

L'alumine utilisée est de l'oxyde d'aluminium standardisé pour chromatographie sur colonne Merck.

L'utilisation de l'alumine comme support solide a pour but d'éliminer les acides gras libres qui, dans ce cas, ne sont pas élués même par des solvants polaires (105).

L'élution démarre par de l'hexane seul et se poursuit par les mélanges suivants :

Hexane - Benzène : 70 : 30
 60 : 40
 50 : 50
 40 : 60
 30 : 70
 0 : 100

Benzène - Méthanol : 90 : 10

Le volume des fractions d'élution est de 250 ml, chaque fraction est évaporée sous vide, reprise par un mélange à volume égal de chloroforme et de méthanol. L'identité des fractions éluées est contrôlée par chromatographie sur couche mince de Silice G avec comme systèmes de solvants :

Benzène - acétate d'éthyle (80 : 20)
 Benzène - méthanol. (80 : 20)
 Chloroforme - acétone (90 : 10)

Les plaques, après migration, sont séchées à l'étuve pour faire évaporer le solvant. On pulvérise ensuite le révélateur et on chauffe les plaques à 110° C pendant 10 mn.

FRACTIONS	SOLVANT D'ELUTION	REVELEUR	TACHES		IDENTIFICATIONS
			Couleur	Rf.	
1 à 5	Hexane - Benzène (70 : 30)	Antimoine (1) p-anisaldéhyde (2)	Violet brun	0.95	Hydrocarbures paraffiniques
5 à 12	Hexane - Benzène (70 : 30)	1 et 2	Violet	0.95 0.93	Hydrocarbures paraffiniques
13 à 16	Hexane - Benzène (50 : 50)	id	id	0.87 0.35	Hydrocarbures oléfiniques Squalène
17 à 20	id	1	Violet Marron id id Violet	id 0.95 0.91 0.86 0.83 0.73	id Hydrocarbures saturés Esters d'acides gras et d'alcools supérieurs Triglycérides
21 à 23	Hexane - Benzène (40 : 60)	id	id	id	id
24 à 25	Hexane - Benzène (25 : 75)	1	Marron id Violet	0.88 0.80 0.73	Esters d'acides gras et d'alcools supérieurs Triglycérides

FRACTIONS	SOLVANT D'ELUTION	REVELATEUR	TACHES		IDENTIFICATIONS
			Couleur	Rf.	
26	Hexane - Benzène (25 : 75)	1	Marron	0.97	Non identifiés
		α - α' dipyridyle	Rose	0.93	
		id	id	0.86	Tocophérols
		id	id	0.80	
27 à 28	id	1	Marron	0.74	Non identifié
		α - α' dipyridyle	Rose	0.95	
		id	id	0.83	Tocophérols
		1	Violet	0.77	
29 à 31	id	1	Violet	0.65	Diglycérides
		1	Jaune	0.65	
		Liebermann	+ (jaune)	0.57	Alcools Terpéniques
		1	Jaune	0.56	
32 à 36	id	1	Jaune	0.40	Alcools Gras
		1	Violet	0.39	
		Liebermann	+ (vert)	0.38	Stérols

Les taches ont été révélées par deux réactifs :

- . une solution à 20 % de trichlorure d'antimoine dans du chloroforme.
- . une solution d'anisaldéhyde dont nous avons déjà donné la composition.

Les sels d'antimoine donnent une coloration violette spécifique des stérols et une coloration jaune spécifique des alcools terpéniques, mais ces réactions ne sont pas toujours très sensibles.

Par contre, la coloration violette obtenue avec l'anisaldéhyde, quoique très sensible, n'est pas spécifique.

En l'absence de substances de référence, certains composés — les esters d'acides gras et d'alcools supérieurs — les diglycérides — certains alcools gras — ont été identifiés par leur R_f figurant dans la littérature (62 - 68).

Après lavage de la colonne, avec les mélanges benzène - chloroforme et Benzène-méthanol, on retrouve toujours deux spots donnant une réaction de Liebermann positive et une coloration violette très sensible avec les sels d'antimoine, réactions caractéristiques des stérols.

Seules les fractions contenant les stérols ont été retenues pour l'analyse, et ceci, sur la base de leurs réactions colorées. Ces fractions ont été évaporées sous vide, reprises par du méthanol. A froid, les stérols cristallisent en quantité relativement importante.

Avec les stérols, deux séries de composés semblent prédominer en quantité, ce sont les hydrocarbures et les tocophérols.

— Propriétés du composé obtenu.

- . les stérols élués cristallisent en aiguilles de couleur blanche.
- . point de fusion : 135° C (KOFER)
- . point de fusion avec un témoin interne de bêta - sitostérol : 135° C.

2.1.2. Etude chromatographique qualitative des stérols isolés.

On effectue une chromatographie sur couche mince, d'une part sur les stérols isolés à l'état cristallisé et mis en solution dans le chloroforme, d'autre part sur un témoin de bêta - sitostérol également en solution dans le chloroforme (100 mg/ml). On obtient pour différents solvants les R_f suivants :

SOLVANTS \ Rf	STEROLS ISOLES	STEROL TEMOIN
Benzène - Methanol (80 : 20)	0.67	0.67
Benzène - Acétate d'éthyle (60 : 20)	0.57	0.57
Benzène - Acétone (90 : 10)	0.58	0.58

On sait que les stérols isolés sont des mélanges en proportions variables de stérols isomères ou de stérols de formule chimique voisine. On constate ici que la chromatographie sur couche mince ne permet pas de les séparer. Pour les séparer, on aura donc recours à l'acétylation qui fournira des dérivés pouvant être, à leur tour, analysés sur couche mince.

2.1.2.1. Acétylation des stérols

Quelques mg de cristaux de stérols sont acétylés pendant deux heures par ébullition en présence d'anhydride acétique et de pyridine. Les stérols acétylés sont extraits par le chloroforme. L'extrait est lavé puis évaporé et repris par du méthanol. Les acétates de stérols cristallisent par refroidissement. On obtient un produit blanc, en paillettes, dont le point de fusion est de 120° C.

2.1.2.2. Chromatographie sur plaques spéciales.

On a recours à la méthode de Coppius - Peereboom (82), qui emploie des plaques de silice imprégnées de nitrate d'argent à 10 %.

On utilise un témoin de bêta - sitostérol et une technique de migration en éventail.

On décape la silice de façon à avoir une bande pointue, ceci permet au solvant de diffuser dans le sens de la migration mais aussi horizontalement, et l'on obtient ainsi une meilleure séparation.

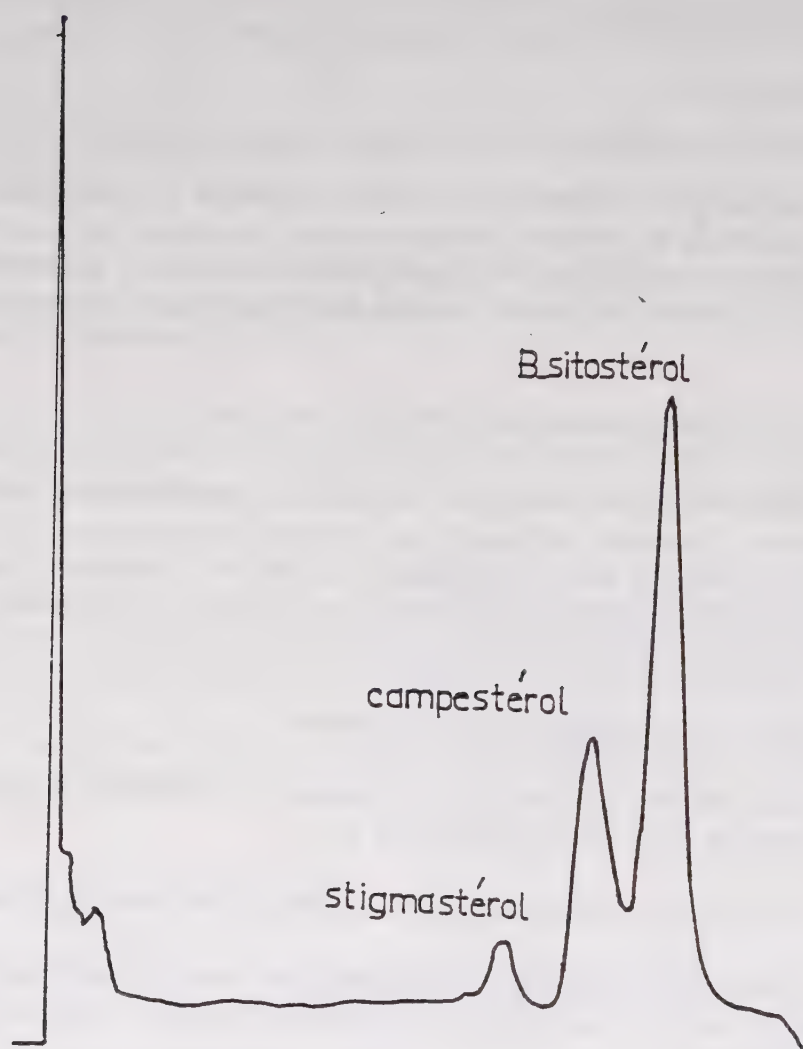
Le solvant de migration est le mélange suivant :

Ether de pétrole : 75
 Chloroforme : 25
 Acide acétique : 0.5

On utilise un révélateur très sensible : la paranisaldéhyde. Les acétates doivent se séparer en fonction de leur saturation. Le bêta - sitostérol témoin migre à la même hauteur que les stérols acétylés.

On obtient une seule tache, ce qui revient à dire que la méthode ne met pas en évidence l'existence de stérols isomères ou de stérols voisins ou que seul les bêta - sitostérol est présent.

fig 2 : stérols des échappées de maïs



Pour résoudre le problème on aura alors recours à la chromatographie en phase gazeuse.

2.1.2.3. Chromatographie en phase gazeuse.

. Conditions expérimentales.

On prépare de nouveau des dérivés acétylés comme indiqué précédemment.

Les acétates de stérols sont injectés dans un appareil HEWLETT - PACKARD, avec détecteur à ionisation de flammes.

— caractéristiques de l'appareil :

- . colonne en inox de 1,5 mètres
- . support chromosorb G (80 - 100 mesh)
- . phase liquide SE 30 à 2,5 %
- . gas vecteur : azote
- . température de l'injecteur : 265° C
- . température du détecteur : 285° C

La chromatographie a été réalisée avec des témoins de stérols purs fournis par le laboratoire de Botanique de Lyon.

. Résultats.

On voit apparaître trois pics comparables à ceux des témoins (figure 2).

On a pu identifier les trois stérols connus du Maïs dans les proportions suivantes :

STIGMASTEROL	6 %
CAMPESTEROL	23 %
BETA SITOSTEROL	71 %

2.2. *Isolement des stérols à partir de l'insaponifiable.*

Le fractionnement sur colonne des échappées de désodorisation aboutissant à la séparation et au dosage des stérols est une méthode relativement longue, nécessitant de grandes quantités de solvants. Nous avons voulu tenter d'effectuer séparation et dosage d'une manière plus rapide, reproductible, réalisable dans un laboratoire de contrôle à l'échelle industrielle.

Pour ce faire, trois étapes successives sont envisageables :

- isolement des stérols
- identification.
- dosage
 - . par gravimétrie
 - . par chromatographie en phase vapeur.

De plus, l'intérêt véritable de l'industriel étant de pouvoir isoler et doser les insaponifiables dans une préparation cosmétique, ou pharmaceutique, nous avons essayé d'extraire et de doser ces substances par l'intermédiaire d'un traceur choisi parce qu'il se trouve en quantité importante et facilement dosable dans ces insaponifiables. Il s'agit du bêta - sitostérol

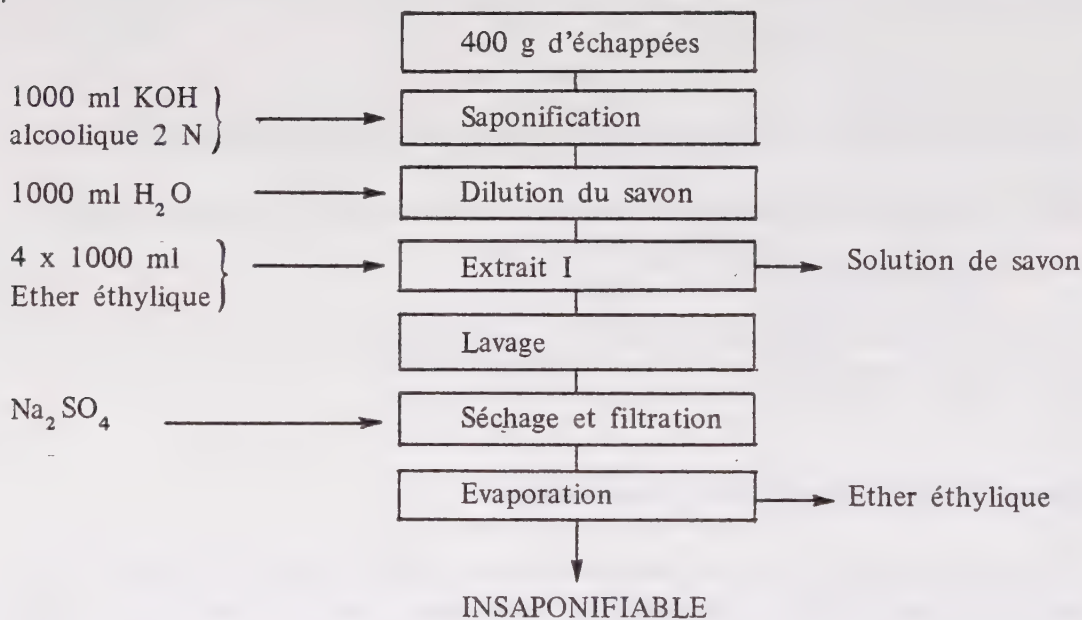
2.2.1. Procédés d'obtention.

2.2.1.1. Obtention de l'insaponifiable.

On procède à une saponification classique des échappées de désodorisation de l'huile de Soja. La saponification se fait au bain-marie bouillant, dans un ballon sous réfrigérant à reflux, en présence de potasse alcoolique. On élimine l'alcool présent par évaporation et on ajoute au mélange une certaine quantité d'eau, ce qui permet d'extraire l'insaponifiable par l'éther éthylique. On évapore l'éther et l'insaponifiable est lavé à l'eau distillée pour éliminer les traces d'alcalinité, séché sur du sulfate de sodium anhydre et évaporé.

La phase aqueuse résiduelle contient les sels d'acides gras. Ceux-ci peuvent être précipités de leurs sels par acidification à l'aide d'une solution d'acide sulfurique à 5 %. Insolubles dans l'eau, ils peuvent être alors extraits par l'éther. La solution étherée obtenue est lavée à l'eau distillée jusqu'à disparition des traces d'acidité, séchée sur du sulfate de sodium anhydre et concentrée. Le résidu R sera gardé pour l'étude des acides gras.

La saponification est réalisée sur 400 g d'échappées de Soja selon le schéma suivant :



On pèse exactement 15,5 g de l'extrait I, que l'on traite une seconde fois par de l'éther éthylique. Les fractions étherées sont recueillies, séchées sur du sulfate de sodium anhydre et évaporées. On reprend par de l'éther anhydre on évapore à nouveau et on pèse.

– Résultat

Partant de 15,5 g de matière grasse, on récupère
6.5 g d'insaponifiables.

Ces insaponifiables recueillis, représentent

42 % des échappées.

Ils forment une masse pâteuse, de couleur rouge-brun, inodore. Très solubles dans le chloroforme et le benzène, ils sont peu solubles dans l'éthanol et insolubles dans l'eau

2.2.1.2. Obtention des stérols.

On utilise comme procédé la cristallisation au pentane. On solubilise 10 g d'insaponifiables dans

45 ml de chloroforme.

On ajoute 4 fois le volume obtenu en pentane. On cristallise à -70°C dans le mélange acétone - carboglace. On filtre sous vide, sur verre fritté taré. On récupère exactement 1,55 g de stérols.

La teneur en stérols est donc de 15,5 % (9,5 % dans les résultats donnés par le fabricant dont on ignore le mode d'obtention des stérols).

2.2.2. Identification des stérols.

Les stérols en solution dans le chloroforme donnent par addition d'anhydride acétique et d'acide sulfurique une coloration verte, intense et stable caractéristique et spécifique (réaction de Liebermann).

2.2.3. Dosage des stérols par chromatographie en phase gazeuse :

On utilise un témoin interne, qui est du cholestérol pur pour analyse.

2.2.3.1. Conditions expérimentales.

- . Appareil HEWLETT-PACKARD à ionisation de flammes
 - . Colonne UCC
 - . Tube inox (longueur : 6 feet - diamètre 1/8 inch)
 - . Gaz vecteur : Azote
- Débit : 30 ml / mn

– Programmation de l'appareil

- . température de l'injecteur : 315°
- . température du détecteur : 335°
- . programme : 2°/mn de 210° à 280°
- . sensibilité : 10³
- . volume injecté : 2 microlitres (seringue Hamilton).

– Préparation des échantillons.

On prépare des dérivés acétylés et des dérivés trimethylsilyl ethers de stérols selon la méthode de Wolff (105). On prépare exactement 500 mg de stérols additionnés de 50 mg de cholestérol que l'on acétyle.

2.2.3.2. Résultats.

STEROLS	Surface	Pourcentage Général	Poids	Pourcentage relatif	Pourcentage dans l'insaponifiable
CHOLESTEROL	68	23	50		
CAMPESTEROL	66	22.4	48.7	29	9.7
STIGMASTEROL	61	20.7	45	27	9
β - SITOSTEROL	100	33.9	73.5	44	14.7

	VALEURS TROUVEES	VALEURS DU FABRICANT
CAMPESTEROL	4.3	2.7
STIGMASTEROL	3.96	2.3
β - SITOSTEROL	6.46	4.6
STEROLS TOTAUX	14.6 %	9.6 %
– STEROLS dosés par chromatographie :		14.6 %
– STEROLS précipités au pentane :		15.5 %

FIGURE 3: STEROLS DES ECHAPPEES DE SOJA
(dérivés acétyles)

1 - 13-sitosterol : 44.5 %

2 - stigmasterol : 29.2 %

3 campesterol : 25.6 %

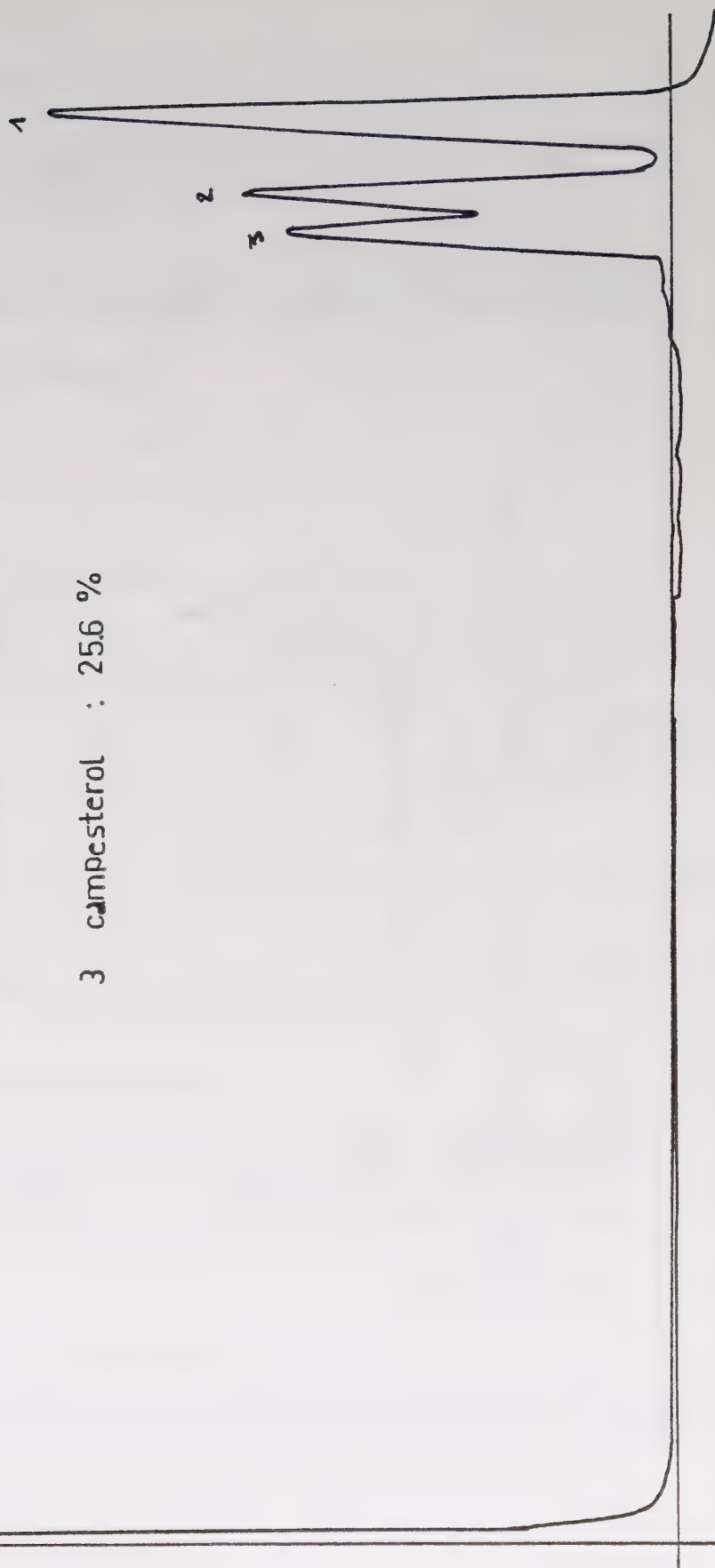
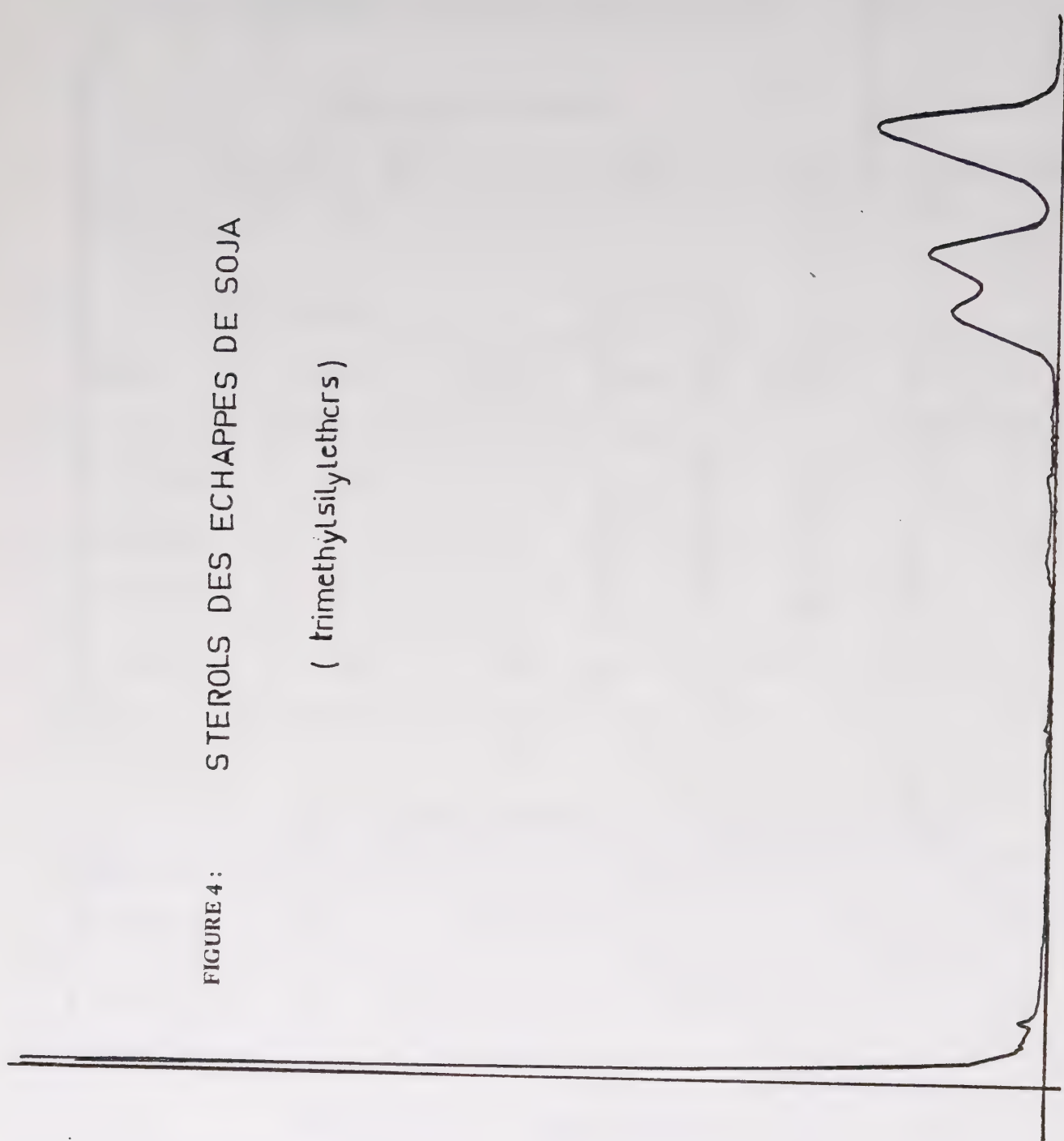


FIGURE 4: STEROLS DES ECHAPPES DE SOJA
(trimethylsilyl ethers)



2.2.4. Essai d'application de cette méthode au produit fini.

Au niveau du contrôle physicochimique, le principal souci du fabricant, aussi bien dans l'industrie cosmétique que dans l'industrie pharmaceutique est le dosage du principe actif dans un produit fini.

Nous avons tenté alors de doser les stérols des échappées dans un véhicule gras, habituellement utilisé dans les crèmes et les pommades, la Sidépaline R (huile de vaseline).

La prise d'essai est constituée par un mélange de :

Sidépaline (R)	10 g
Echappées de soja	10 g

On fixe le mélange sur colonne de silice. On élue d'abord par l'hexane qui entraîne préférentiellement la Sidépaline^R, et dans un deuxième temps par le dioxyde d'éthyle. On évapore la fraction étherée recueillie et on reprend par du chloroforme jusqu'à 200 ml. L'éluate est saponifié par de la potasse alcoolique 2 N, épuisé à l'éther, évaporé et repris par 200 ml de chloroforme. Après évaporation le résidu obtenu est acétylé en présence de cholestérol témoin. On réalise une chromatographie en phase vapeur dans les mêmes conditions que précédemment. On obtient un premier pic correspondant aux hydrocarbures de la Sidépaline (R), puis le pic du cholestérol et enfin les trois stérols des échappées.

Les temps de rétention ne sont pas modifiés et les hydrocarbures de la Sidépaline(R) ne modifient en rien le comportement des stérols (Figure 5).

Il est donc possible d'isoler, de doser les stérols - traceurs dans une préparation.

2.3. Identification des Acides Gras des Echappées.

Le résidu R obtenu lors de la saponification des échappées contient des acides gras. Ces derniers sont isolés par extraction à l'éther après acidification. Ils sont ensuite méthylés par une solution de méthanol sulfurique et les esters ainsi formés sont extraits à l'éther.

2.3.1. Chromatographie des esters méthyliques.

La chromatographie en phase gazeuse est effectuée dans un appareil HEWLETT-PACKARD, sur un mélange d'esters méthyliques en solution dans l'hexane.

- colonne en acier
- support chromosorb
- phase liquide 10 % DEGS.
- gaz vecteur : Azote
- programmation : 4°/mn de 160° à 212° C
- quantité injectée : 7 microlitres.

FIGURE 5: CHOLESTEROL ACETYLE

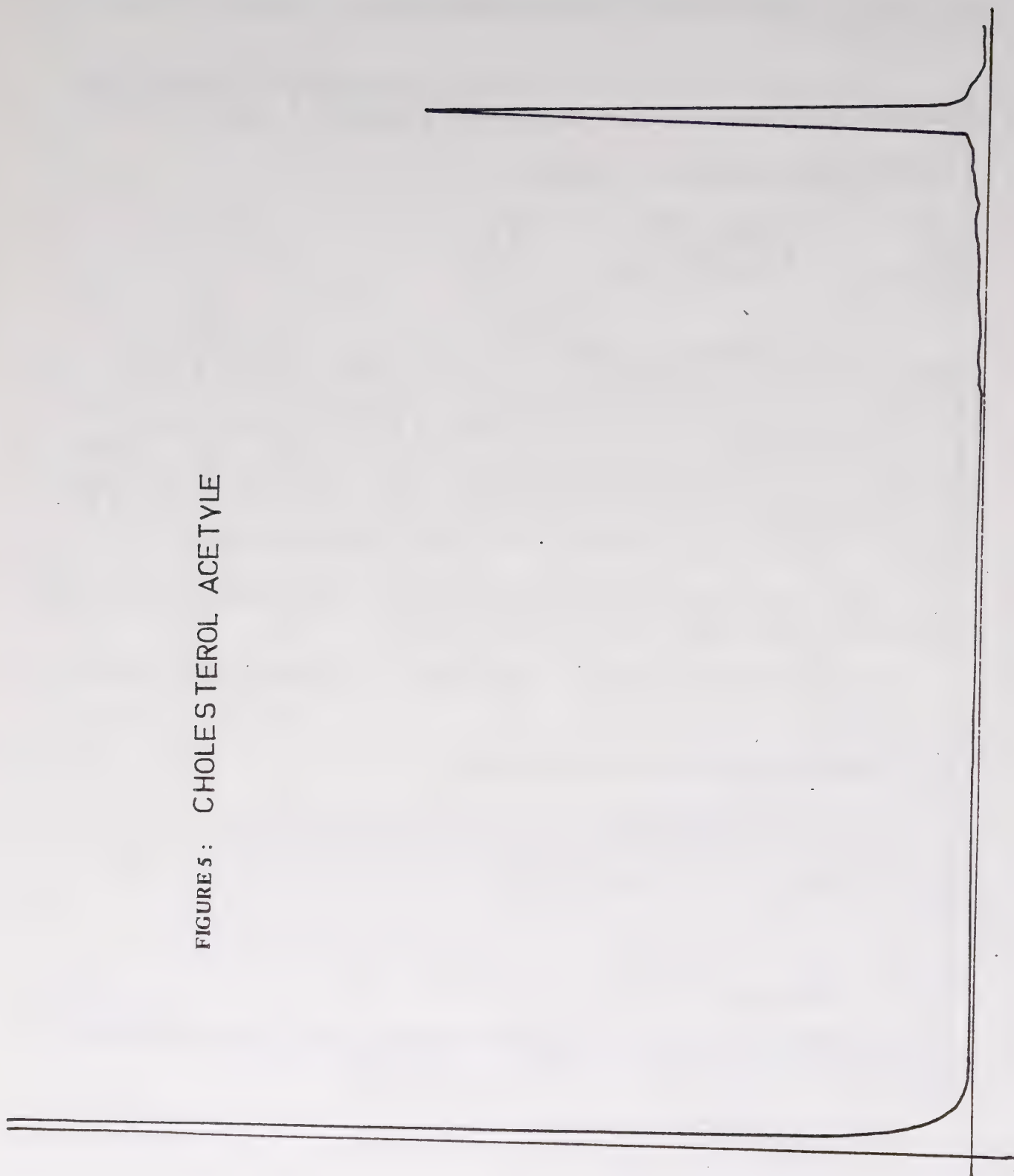
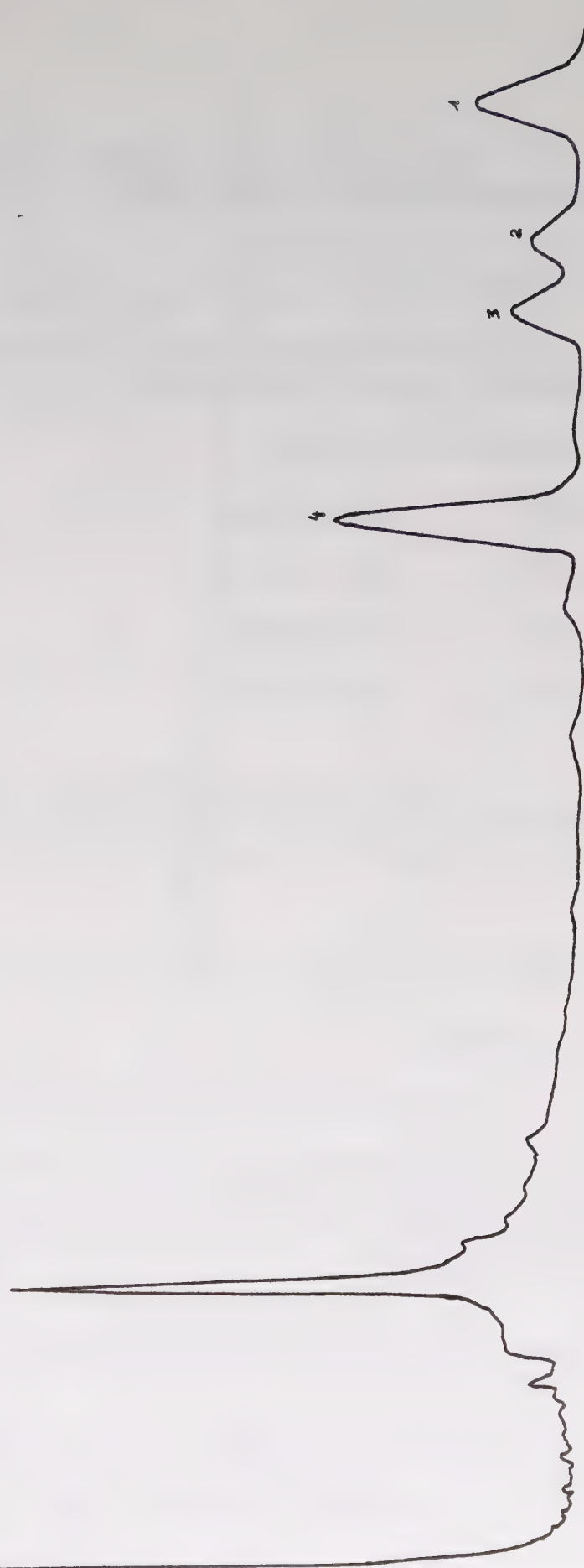


FIGURE 6: MELANGE : sidépaline_cholestérol _ échappées de soja

- 1- B- sitostérol
- 2- stigmasterol
- 3- campésterol
- 4- cholestérol



On réalise dans les mêmes conditions une chromatographie des esters méthyliques des acides gras contenus dans l'huile d'origine.

2.3.2. Résultats.

On remarque que les acides gras des échappées sont les mêmes que ceux de l'huile d'origine avec cependant un enrichissement, surtout pour les termes les plus lourds (Figures 7 et 8).

On a pu identifier 4 acides gras :

en C 16 : acide palmitique

en C 18 : 1 acide oléique

en C 18 : 2 acide linoléique.

en C 18 : 3 acide linolénique.

L'acide dominant est l'acide linoléique, viennent ensuite l'acide oléique et l'acide palmitique et enfin l'acide linolénique (en quantité appréciable). Ces résultats sont en accord avec les chiffres donnés dans la littérature (62 - 68).

3. Analyse des lots d'échappées correspondant à une "tranche" d'huile raffinée.

3.1. Résultats.

Les résultats de l'analyse des lots d'échappées figurent dans les tableaux 16 et 17.

Chaque chiffre cité, pour une tranche d'huile, correspond à un échantillon moyen résultant du mélange des prélèvements d'un certain nombre de lots provenant de cette tranche. Les diverses tranches proviennent d'une huile de même origine pour le maïs et le Soja mais non pour l'arachide.

C'est pourquoi, dans ce dernier cas, on relève des différences aussi importantes entre les tranches au niveau, de la teneur en insaponifiables, et de l'acidité.

3.2. Nécessité et mise au point d'un cahier des charges.

Les échappées de désodorisation posent un certain nombre de problèmes :

. les analyses, effectuées sur des lots appartenant à des tranches d'huiles prises au hasard mais se succédant dans le temps au niveau de la fabrication, permettent d'ores et déjà de remarquer l'existence de grandes variations dans la teneur en insaponifiables. Le cas est particulièrement frappant pour l'Arachide, le taux d'insaponifiables passant de 70 % à 20 % suivant l'origine de l'Arachide. Ce phénomène est beaucoup moins prononcé pour le Soja et le Maïs.

FIGURE 7 :

HUILE DE SOJA

esters méthyliques d'acides gras

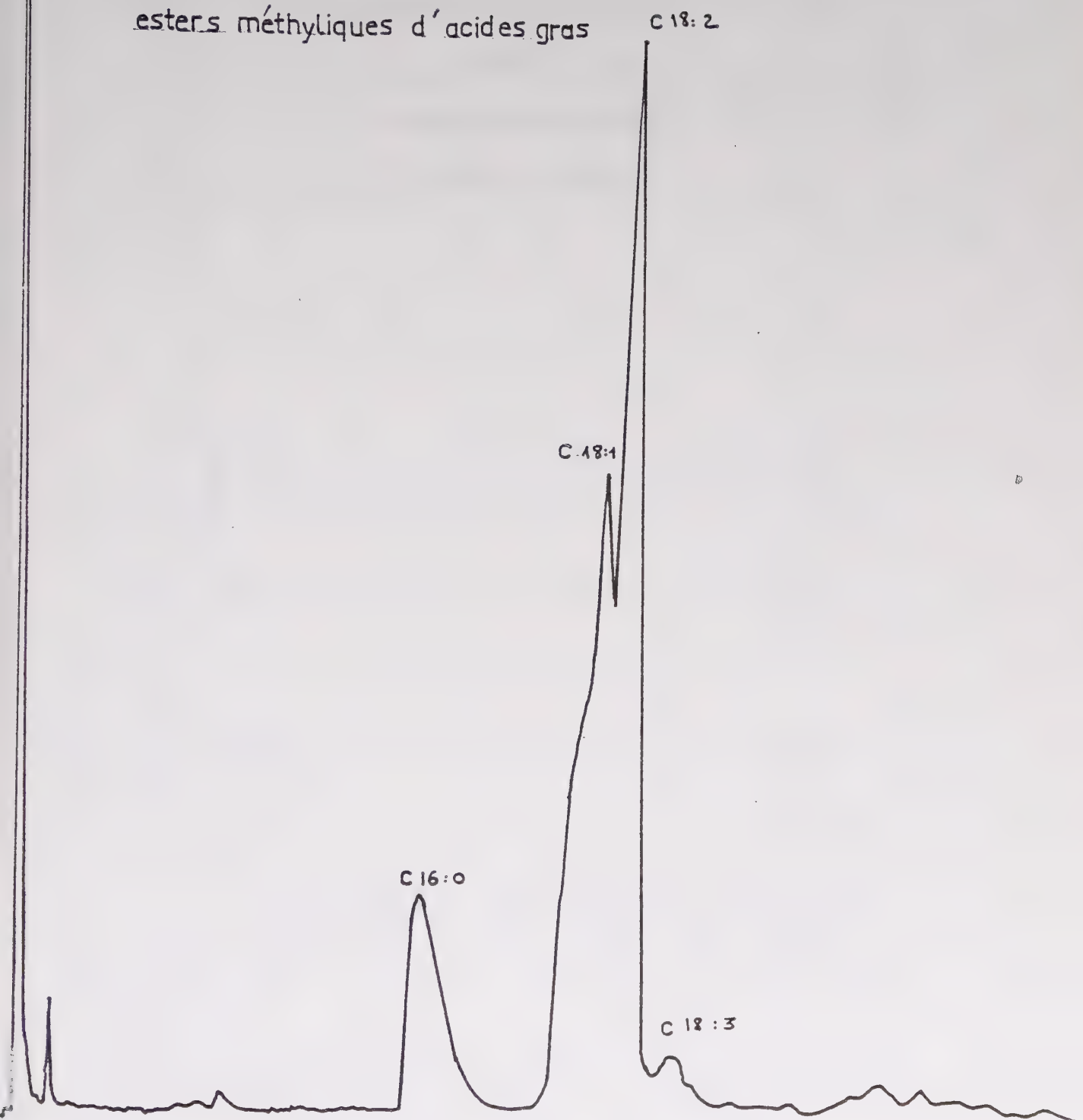


FIGURE 8 :

ECHAPPEES D'HUILE DE
SOJA :
esters methyliques
d'acides gras

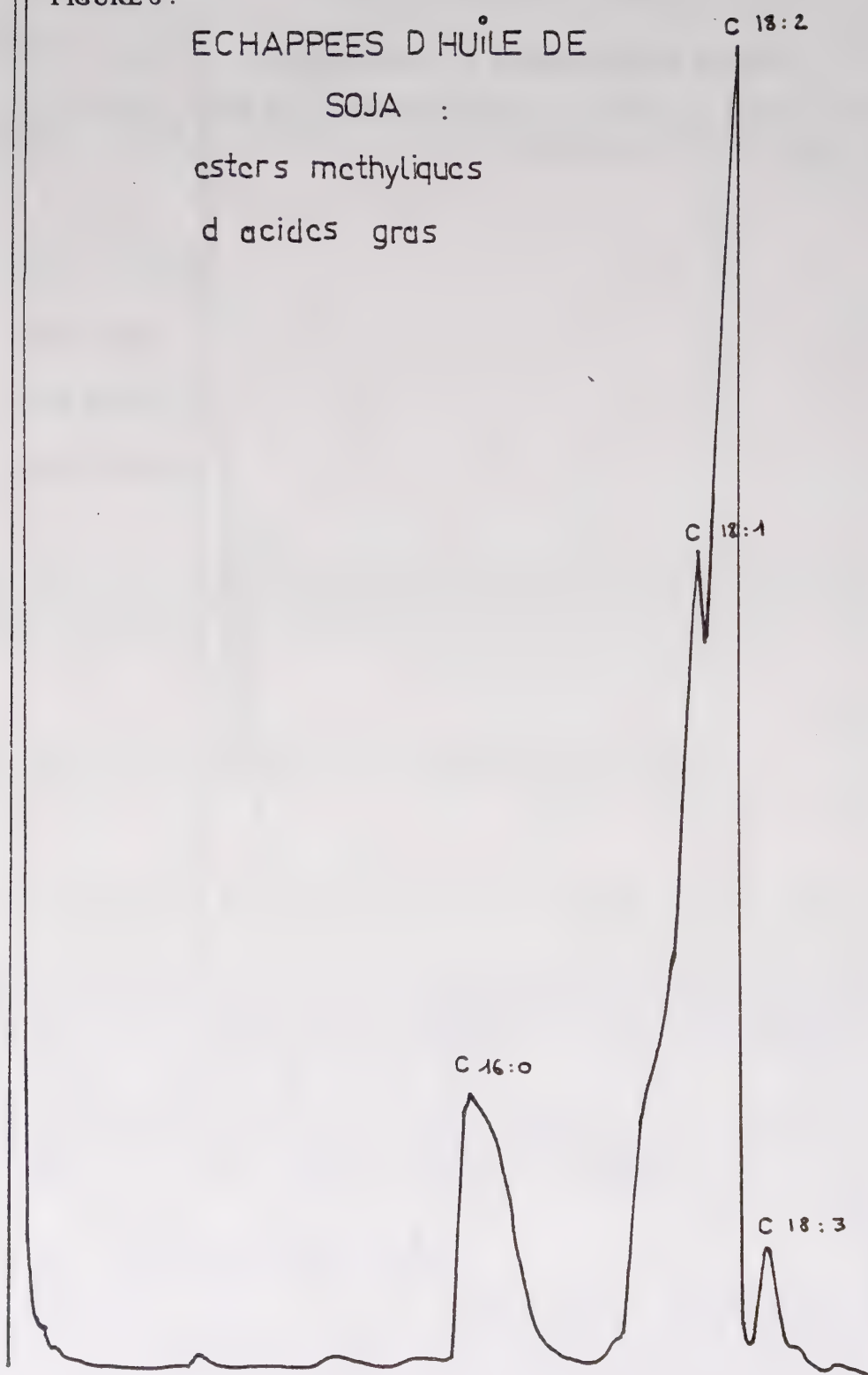


TABLEAU 16 : Fiche analytique de différents lots d'Echappées

Qualité	Tranches	Lots	Tonnage de l huile désodorisée	Echappées (Kg)	% Insaponifiables	Acidité	Indice Saponification	Indice Iode	Indice Peroxide
SOJA	11.12 au 16.12	—	341	422	30.2	24.2	124	↑	18
	19.12 au 7.1	112 à 116	553	707	27.3	24.7	122		20
	14.1 au 16.1	129 à 132	496	548	27.9	21.4	122		12
	23.1 au 29.1	138 à 141	425	484	24.5	25.2	120	128	20
	4.2 au 11.2	148 à 153	376	903	24	29.2	120	↓	20
	18.2 au 19.2	158 à 159	167	291	20.4	33.1	118		12
	24.2 au 28.2	162 à 167	348	834	24	31.8	118		6
	9.3 au 13.1	174 à 178	479	688	20.9	31.7	118		6
	6.1 .au 8.1	117 à 118	143.5	188	20.4	32	142	↑	6
	20.1 au 21.1	135 à 137	153	445	25	37	147		6
MAIS	1.2 au 2.2	144 à 146	128	471	23.9	37.6	145	112	6
	17.2	156 à 157	61	291	18.9	41.9	142	à	4
	3.3 4.3	169 à 172		635	21	39.6	144	116	4
								↓	
ARA – CHIDE	16.12 au 18.12	101 à 111	252	1520	59.6	6.4	144	↑	3.2
	8.1 au 10.1	119 à 128	235	1455	59.6	7.5	144		3.2
	30.1 au 1.2	142 - 143	198	294	28.7	23.8	127	92	2.8
	14.2	154 à 155	155	293	19.3	33.1	120		2.2
	2.3	168	125	154	17.6	31.3	122	↓	2.2
	15.3 au 17.3	179 à 180	155	274	21.9	32	120		2.2

TABLEAU 17 : Composition des stérols par Chromatographie en Phase Gazeuse

NUMEROS	Huile	% Stérols	% Insapo.	β Sitostérol	Stigmastérol	Campésterol
76.090.4	Arachide	1.1	23.7	59	18	23
76.090.2	—	1.9	26.9	56	20	24
76.090.15	—	2.1	22.7	56	5.20	24
76.090.13	—	3.4	20.2	57*	20	23
76.090.6	—	5.4	21.8	56	20	24
76.090.9	—	6.2	24.0	55*	21	23
76.090.11	—	7.6	22.0	54*	22	24
76.090.3	Maïs	1.5	24.1	59	15	26
76.090.12	—	4.8	19.5	61	12	27
76.090.16	—	5.0	27.8	63	11	26
76.090.7	—	6.2	21.3	59	14	27
76.090.1	Soja	2.4	29.9	46	26	28
76.090.10	—	3.8	27.9	48	25	27
76.090.14	—	5.2	21.5	45	26	29
76.090.5	—	7.9	28.2	47	25	28
76.090.8	—	15.5	26.6	47	24	29

* Correspond à la présence de Δ^7 Stigmasténol

. De plus , il est difficile pour le fabricant de maîtriser l'origine des huiles brutes qui suivent, le plus souvent, les fluctuations du marché mondial.

. La reproductibilité des valeurs analytiques d'un lot à l'autre, d'une tranche à l'autre, au fur et à mesure de la fabrication, sera donc le souci majeur pour le fabricant.

. Le cas des matières grasses d'origine végétale est spécialement ardu : le lieu, le moment de la récolte, l'origine de l'huile, la durée du stockage, le mode de raffinage, sont autant de facteurs de variabilité de la qualité de l'huile raffinée et, par conséquent, des échappées correspondantes.

. Pour la commercialisation du produit, s'impose donc la nécessité de définir et d'établir un cahier des charges. Ce cahier permettrait de proposer des valeurs analytiques relativement constantes en définissant les écarts maximum et minimum de ces valeurs à l'intérieur d'une échelle aussi restreinte que possible.

. Sachant qu'il est pratiquement impossible d'agir sur le mode de raffinage ou l'origine de l'huile, seuls des mélanges permettront d'obtenir une composition reproductible.

Ces mélanges devront se faire, non seulement entre différents lots d'une seule tranche mais encore entre plusieurs tranches d'une même huile correspondant à une fabrication donnée. Il sera nécessaire de réchauffer et homogénéiser la masse et les prélèvements pour le contrôle devront s'effectuer à ce moment précis.

Les mélanges obtenus constitueront les nouveaux lots d'échappées de désodorisation de composition chimique moyenne.

. Le cahier des charges devra donner les indications suivantes :

- pourcentage d'insaponifiables
- pourcentage de stérols
- indice d'iode
- acidité
- indice de saponification
- indice de peroxydes
- identification des constituants par chromatographie sur couche mince.

REMARQUE :

La chromatographie sur couche mince permettrait de contrôler rapidement l'apparition de substances inhabituelles, et de retrouver les composants spécifiques des échappées par leurs caractéristiques de R_f et de coloration.

4. Essais d'amélioration des caractéristiques organoleptiques des échappées.

Afin d'améliorer les défauts des échappées tenant à leur couleur et à leur odeur, une tentative de traitement a été réalisée par le fabricant. Les échappées recueillies dans le condenseur barométrique, qui constituent l'échantillon E₀, ont subi une seconde désodorisation.

Après lavage et séchage, le produit est blanchi par 1 % de Terre à Foulon (TONSIL standard FF Südchemie) et 1 % de charbon actif, à 98° C.

Le produit obtenu, l'échantillon E₁, est ensuite désodorisé pendant 1 heure à 140° C et sous un vide de 8 mmHg. On récupère l'échantillon D₁ ainsi que 0.8 % de matières volatiles. L'odeur de l'échantillon D₁ n'étant pas satisfaisante, ce dernier est soumis encore pendant 1 heure à une désodorisation à 140° C et sous un vide de 6 mmHg. On obtient le résidu D₂. Les matières volatiles constituent encore 0.8 % de l'échantillon.

Les analyses chimiques donnent les résultats suivants :

ECHANTILLON	DATE	ACIDE GRAS LIBRES %	INSAPONIFIABLES %
E ₀	Sept. 1974	38	29
E ₁	Sept. 1974	50.6	29.1
E ₂	Nov. 1974	58.7	27.1
D ₁	Nov. 1974	49.8	35
D ₂	Nov. 1974	43.8	38.8

Ces analyses font apparaître que plus la désodorisation est longue et plus il se produit un enrichissement en acides gras libres et en insaponifiables. Ce phénomène est certainement dû à l'hydrolyse qui accompagne inévitablement la désodorisation.

Le produit obtenu est nettement amélioré tant au point de vue qualitatif que quantitatif. L'odeur est beaucoup moins prononcée et on constate un éclaircissement appréciable de la couleur.

Cet essai d'amélioration des échappées, réalisé par le fabricant lui-même et apportant des résultats appréciables, ne nécessite pas d'investissements spéciaux et ne fait pas appel à des techniques de transformation. Il peut être facilement envisageable à l'échelle industrielle.

III – ETUDE TECHNOLOGIQUE.

1. Formulation du produit à l'état brut.

Cette étude a été effectuée sur les échappées de soja, de maïs et d'arachide.

1.1. Etude du comportement des échappées.

Avant d'incorporer les échappées dans une préparation cosmétique nous avons testé leur comportement.

1.1.1. Comportement à la centrifugation.

Après centrifugation durant 60 minutes, des échappées, on observe une séparation en trois phases :

- une phase supérieure liquide, surnageante, de couleur marron foncé, à forte odeur sui generis.
- une phase intermédiaire de consistance molle, marron clair.
- une phase inférieure qui se dépose de couleur beige.

1.1.2. Pouvoir émulsionnant.

- La phase inférieure donne par agitation avec de l'eau à température ambiante une émulsion blanche, stable.
- La phase supérieure est de l'huile.
Elle se mélange bien avec différentes huiles végétales et avec l'huile de vaseline.
- La phase intermédiaire donne un mélange homogène, par agitation avec l'huile de vaseline. Après un temps de repos, il se produit une décantation avec dépôt et sédimentation. Le produit entier, s'émulsionne bien avec l'eau, probablement en raison de la quantité non négligeable de stérols qu'il contient.

1.1.3. Détermination du point de fusion.

- Echappées de Soja : 62°
- Echappées de Maïs : 62°
- Echappées d'Arachide : 62°

1.1.4. Mesure du pH

Dans un becher de 100 ml on pèse exactement 5 g d'échappées et 45 g d'eau bidistillée. On agite de façon à obtenir un mélange homogène. On mesure le pH sous agitation constante.

- Echappées de Soja : 6,5
- Echappées de Maïs : 6,5
- Echappées d'Arachide : 6,5

1.1.5. Influence de l'homogénéisation.

Le passage des échappées sur ALM De Moutis, appareil servant à affiner les émulsions provoque un éclaircissement appréciable du produit brut, surtout dans le cas des échappées d'arachide.

1.2. Formulation.

1.2.1. Choix des formules.

Afin d'étudier la compatibilité des échappées avec le milieu environnant, leur comportement en présence d'autres substances, leur stabilité, nous avons testé deux sortes de formules différentes, l'une à phase continue aqueuse H/E, l'autre à phase continue huileuse E/H. Nous avons adopté des formules simples offrant le maximum de garantie de stabilité.

1.2.1.1. H/E : Caractéristiques des différents constituants

Les formulations H/E sont à base de :

- CB 5716, base émulsionnée non ionique, déjà prête, contenant des esters stéariques de polyoxyéthylène glycols.

Formule déjà éprouvée, son intérêt réside dans sa facilité et sa rapidité d'emploi

Sa composition est la suivante :

Tefose	10
Labrafil M 2130 CS	3
Acide stéarique	2
Huile de vaseline	10
Acide sorbique	0,03
Methoxyde sodé	0,07
Eau	74,8

– Le Labrafil M 2130 CS est une huile de palme hydrogénée interestérifiée, à base de Glycérides Laupalmitostéariques polyoxyéthylénés. C'est un émulsionnant non ionique.

. Mode opératoire.

Le mode opératoire est particulier puisque l'émulsion est déjà faite.

On réchauffe l'excipient à 70°. On chauffe les échappées mélangées au Labrafil à 70°, température supérieure à leur point de fusion. On incorpore le mélange à l'excipient et on ajoute le conservateur. On refroidit sous agitation lente et régulière.

. Caractéristiques des crèmes obtenues.

Les formules étudiées et les caractéristiques correspondant aux crèmes obtenues figurent dans les tableaux suivants (Tableau 18 et 19).

1.2.1.2. Formulation E/H

Nous avons choisi de préparer une crème au Borax car c'est la plus classique des formules E/H.

. Caractéristiques des produits

– Echappées	10
– Cire d'abeille	15
– Huile de vaseline	45
– Borax	2
– Paraoxybenzoate de méthyle	0.1
– Eau	Q.S.P. 100

La cire d'abeille donnera du corps à l'émulsion tandis que l'huile de vaseline procurera un certain glissant.

Le Borax, saponifiant l'excès d'acides gras de la cire d'abeille agira comme émulsionnant.

. Mode opératoire

- Chauffage de la phase aqueuse à 90°
- Chauffage de la phase grasse à 90°
- Mélange des deux phases et agitation jusqu'à refroidissement.

. Caractéristiques des crèmes obtenues.

On obtient des émulsions épaisses (dureté : 89) de couleur blanc mat. Les crèmes sont pourtant collantes et pénètrent difficilement.

TABLEAU 18 : Première série d'essais.

Constituants	Formules	1	2	3	4	5
Echappées de Soja		5	—	—	—	—
Echappées de Maïs		—	5	—	—	—
Echappées d'Arachide		—	—	5	5	5
Labrafil M 2130 CS		5	5	5	5	5
CB. 5716						
Parfum					0.5	1

TABLEAU 19 : Caractéristiques des crèmes de la première série d'essais

CARACTERISTIQUES	1	2	3	4 et 5
Aspect	brillante	brillante	plus onctueuse plus lisse plus claire	
Couleur	ivoire	plus claire		
Odeur	rance	plus atténuée	plus atténuée	
pH	5.7	5.7	5.7	
Dureté	5.15	18	20	
Réversibilité	bonne	bonne	bonne	
Examen entre lames	émulsion fine	id	id	
Fibres : — longueur — aspect	3 cm dentelé	—	—	
Inconvénient	blanchit à l'étalement	id	—	Odeur difficile à couvrir

1.2.2. Contrôles.

Ils sont surtout destinés à assurer la reproductibilité, la stabilité et la tolérance cutanée d'une préparation.

Ils porteront généralement sur :

— les caractéristiques organoleptiques

- . couleur à noter (avant et après un'éventuel affinage)
- . odeur
- . caractère lisse ou non
- . blanchissement à l'étalement
- . facilité d'étalement
- . tirant
- . caractère collant, brillant
- . après quelques jours de conservation : glissement sur verre ou non. Le glissement traduit une exsudation.

— Mesure du pH

- . Examen entre deux lames :

on dépose sur une lame de verre une petite quantité de la préparation qu'on recouvre d'une seconde lame. On examine au microscope l'homogénéité de la préparation qui ne doit présenter ni granulations, ni parties fibreuses, ni plages non émulsionnées.

— La dureté :

Cette mesure est effectuée à l'aide d'un pénétromètre à cône (52).

"Pour effectuer une mesure, la surface externe du cône est graissée avec de la vaseline, puis enduite de talc. Elle se recouvre d'un voile blanc. La tige est passée dans les guides. On laisse descendre le cône lentement (en le maintenant par un fil) sur la surface du corps pâteux dont on veut mesurer la dureté. Le corps pâteux est déposé au préalable dans une capsule en porcelaine, aux bords arrasés, de 8 cm de diamètre.

La surface du corps pâteux a été aplanie avec une spatule bien droite. Le cône s'enfonce dans le corps pâteux.

Après 3 minutes chronométrées, le cône est retiré et la tige sortie des guides. Sur la partie immergée le talc a été enlevé. La disparition de l'enduit blanc donne un cercle précis dont on mesure le diamètre X au moyen d'un pied à coulisse.

Une table donne la dureté D en fonction de X pour les corps de densité : 1.

Exemples de la dureté D de certains corps à 18° C :

Lait de beauté fluide	0,5
Lait très épais	2,5
Crème très molle	20
Vaseline codex	60

– Mesure de la longueur de fibres (52)

“On utilise un disque de 2 cm de diamètre monté sur une tige. Le disque est appliqué sur la crème et arraché à plusieurs reprises à la même place. Dans ces conditions, la fibre de crème restant adhérente au disque a une longueur suffisamment régulière pour permettre une mesure intéressante. Nous l'avons appelé “longueur de fibre”. Cette longueur varie de 0,5 cm pour les crèmes non filantes à 7 ou 8 cm pour les crèmes très filantes (vaselines). Pour la plupart des crèmes, cette longueur se trouve comprise entre 1,5 et 3 cm.

L'aspect de cette fibre donne un résultat au moins aussi intéressant que sa longueur. Les fibres dentelées ou irrégulières sont dues à une structure hétérogène du produit et constituent toujours un indice défavorable. Les fibres en flamme sont généralement en relation avec un “tirant” exagéré et se rencontrent chez les vaselines à fibres longues. Pour les crèmes de beauté, les fibres striées ou lisses à pointe aiguë au capillaire sont les plus fréquentes et caractérisent les produits corrects”.

– Réversibilité :

C'est un contrôle de stabilité accélérée.

On réchauffe une petite quantité de la préparation jusqu'à la température de fabrication, sous agitation. On laisse refroidir, sous agitation, dans un bain froid.

On refait à nouveau un examen entre deux lames.

– Tests de conservation :

Les crèmes préparées sont conditionnées dans des tubes en aluminium et dans des flacons de verre.

Les tubes sont conservés à température ambiante et les flacons à l'étuve à + 37° C

Les crèmes se sont toutes mal conservées.

A l'étuve, on observe une rupture des émulsions au bout de huit jours. Les crèmes conditionnées dans les tubes exsudent au bout d'un mois.

En bref, ces crèmes contenant 5 % d'échappées brutes présentent des caractéristiques cosmétiques peu appréciables quant à l'odeur et à la stabilité. De plus, les échappées elles-mêmes ne sont pas commercialisables telles quelles puisque ne présentant pas également de caractères organoleptiques acceptables :

- . odeur de friture tenace et difficile à couvrir
- . couleur marron foncé
- . absence d'homogénéité de la masse.

Nous avons donc tenté d'obtenir une matière première d'aspect convenable dont l'intérêt commercial est représenté par le contenu vitaminique. Dans ce but, la simple dilution du produit brut dans un véhicule adapté pouvait être une solution intéressante et éventuellement peu onéreuse.

2. Mise en forme galénique des échappées.

Les échappées de désodorisation étant destinées à entrer dans la composition de crèmes hydratantes, assouplissantes, et, éventuellement, de laits, nous avons essayé d'envisager leur transformation en matière première selon trois formes galéniques :

- Gel
- Excipient pâteux
- Liquide huileux.

2.1. Obtention d'un gel.

Le Tristéarate d'aluminium est habituellement utilisé pour sa propriété de donner aux huiles un caractère thixotrope. La gélification se produit, dans ce cas, à température inférieure à 120° C.

Le procédé que nous avons mis en œuvre est le suivant : après homogénéisation de 100 g d'échappées par chauffage à leur température de fusion (70° C), on ajoute 2 % de tristéarate d'aluminium. On chauffe, en agitant, et on dépasse la température de gélification normale des huiles en présence de tristéarate d'aluminium jusqu'à 160° C. Les échappées étant les résidus que nous connaissons ont subi au cours de la désodorisation des températures bien supérieures. Il n'y a donc plus de risques de dégradation. Malgré un chauffage poursuivi jusqu'à 160° aucune gélification ne se produit, même en solubilisant dans un premier temps le gélifiant dans le tiers de la prise d'essai.

L'huile d'origine se gélifie normalement dans les mêmes conditions. Il faut donc attribuer l'échec de ce procédé à la présence du concentrat non glycéridique beaucoup plus important dans les échappées (30 % environ) que dans les huiles raffinées (1 à 2 %).

2.2. Obtention d'un excipient pâteux.

On incorpore 50 % d'échappées dans 50 % de stéarine. Après fusion du mélange à 70° C on refroidit sous agitation lente.

On obtient une masse homogène, de couleur beige foncé, très peu odorante par rapport aux échappées brutes. Cette masse est conservée à température ambiante et à l'étuve à +37° C. A température ambiante le mélange se conserve relativement bien, mais il exsude au bout de 48 heures à l'étuve. Il ne peut donc être retenu.

2.3. Obtention d'un liquide huileux.

Des essais ont été effectués avec différents corps gras liquides :

des glycérides caprilicapriques (Labrafac lipophile)

L'isostéarate de glycérol

Sidépaline

Eriol (alcool benzylique anticristallisant).

On a réalisé des mélanges à froid avec ces différents corps gras contenant toujours 50 % d'échappées.

Le seul résultat encourageant est celui obtenu avec la Sidépaline les autres corps gras ne solubilisant pas totalement les échappées.

Le véhicule retenu à ce stade est donc la Sidépaline. Différentes concentrations sont réalisées (25 - 30 - 35 - 45 et 50 %). Plus la concentration en Sidépaline augmente, meilleure est la solubilisation. Cependant, la Sidépaline utilisée à grande concentration peut poser les problèmes d'intolérance cutanée qui lui sont reconnus.

Ceci nous a poussé à rechercher, sinon le solvant idéal, du moins un solvant possédant certains critères de choix :

- le meilleur pouvoir solubilisant
- l'absence d'irritation cutanée
- l'absence d'interférence avec les échappées lors du dosage
- un bas prix de revient.

2.3.1. Première série d'essais.

2.3.1.1. Diluants sélectionnés.

Dans un premier temps nous avons essayé quatre corps gras liquides :

- . l'EUTANOL G (Alcools gras supérieurs - Fabricant : HENCKEL)
- . l'HYDROPHIOL (isostéarate de propylène - glycol - Fabricant Gattefossé)
- . l'isostéarate d'isostéaryle (Fabricant Gattefossé)
- . la Sidépaline retenue comme témoin.

L'Eriol fut quelquefois ajouté comme anti-cristallisant. Sur un essai grossier, ces quatre produits semblent être de bons solubilisants des échappées.

2.3.1.2. Solubilisation et contrôles.

— Mode opératoire :

Après mélange et agitation à froid, on filtre le liquide obtenu (il se forme toujours et dans tous les cas un léger dépôt de corps gras insolubles).

Le filtrat est réparti dans 4 flacons :

- . l'un est conservé à la température du laboratoire (20° C)
- . un second est placé à +4° C dans un réfrigérateur
- . un troisième est mis à l'étuve à +50° C
- . le dernier est exposé aux variations de température diurne et nocturne.

— Contrôle de stabilité des mélanges.

Chaque jour, les échantillons sont ramenés à la température du laboratoire, puis chauffés au bain-marie à 70° C. Ces changements de température successifs accélèrent la cristallisation des produits qui sont en surfusion et qui risquent de sédimenter suivant les conditions de stockage.

Le tableau 20 donne le détail des résultats obtenus.

A température ambiante tous les produits sont limpides et ne cristallisent pas.

A l'extérieur, les produits soumis aux fluctuations de température ont un comportement différent. Dans la Sidépaline, il se produit un dépôt assez important et qui ne disparaît pas. Après chauffage et refroidissement, le produit recristallise en surface.

Dans l'Eutanol G et l'Hydrophilol il se produit également un dépôt ainsi qu'un trouble léger.

Il semble que le solubilisant le meilleur et le plus constant soit l'Isostearate d'isostearyle.

Ce produit sera donc retenu pour la formulation.

— Détermination de la couleur : (colorimètre Hellige)

. Echappées / Sidepaline (45 %)	15 +
. Echappées / Sidépaline (25 %)	17
. Echappées / Hydrophilol (50 %)	16 +
. Echappées / Isostearate (30 %)	15 +
. Echappées / Isostearate (50 %)	14
. Echappées / Eutanol G (50 %)	15

Le mélange contenant 50 % d'Isostéarate d'isostéaryle présente une couleur ambrée et une faible odeur sui generis.

TABLEAU 20 : Comportement des échantillons selon la température

DATES	PREMIERE SEMAINE			DEUXIEME SEMAINE			TROISIEME et QUATRIEME SEMAINES		
	L	R	E	L	R	E	L	R	E
SIDEPALINE EROL ECHAPPEES 25 5 70	Limpide	Dépôt +++	Dépôt ++++	Limpide	Dépôt ++++	Dépôt ++++	Limpide	Dépôt ++++	Dépôt ++
SIDEPALINE EROL ECHAPPEES 45 5 50	Limpide	Idem	Dépôt 2 +	"	"	Dépôt ++	"	"	Dépôt +
SIDEPALINE ECHAPPEES 30 70	Limpide	Idem	Dépôt ++++	"	"	Dépôt ++++	"	"	Dépôt ++++
EUTANOL G ECHAPPEES 50 50	Limpide	Limpide	Dépôt +	"	Limpide	Dépôt +	"	Limpide	Limpide
IHYDROPHILOL ECHAPPEES 50 50	Limpide	léger trouble	idem	"	léger trouble	Dépôt +	"	léger trouble	se fige
Isost. Isostéaryle ECHAPPEES 50 50	Limpide	Se fige	limpide	"	se fige	limpide	"	se fige	Limpide
Isostear. Isostéaryle ECHAPPEES 30 70	Limpide	idem	léger trouble	"	se fige	léger trouble	"	"	se fige

L : Laboratoire
E : Extérieur
R : Réfrigérateur

2.3.1.3. Formulation.

— Type de formulation choisi.

Notre choix s'est porté sur le type d'émulsion H/E, avec base autoémulsionnable.

Nous avons adopté deux types d'émulsions :

- . Une émulsion non - ionique.

Nous avons mis au point une formule à base de Tefose 1500, peu grasse et pénétrante grâce à la présence de Labrafil.

- . Trois formules anioniques acides : ces trois dernières étant des formules beaucoup plus grasses supportent peut-être mieux l'incorporation de produits tels que les échappées.

— Caractéristiques des matières premières utilisées.

- . le Sédéfos (fabricant Gattefossé) :

C'est un stéarate de glycols, auto-émulsionnable. Il donne des émulsions brillantes, onctueuses, de caractère acide et de bonne tolérance cutanée.

- . le Tefose 1500 (fabricant Gattefossé) :

C'est un mélange de monoesters et de di-esters stéariques de polyoxyéthylène glycols donnant une base auto émulsionnable sans ion actif. Base gélifiante le Tefose 1500 supporte l'addition de composés à réaction acide ou alcaline.

- . le Labrafil M 230 CS (fabricant Gattefossé) :

Glycérides Lauro palmito stéariques polyéthoxylés, ajoutés dans le but d'obtenir un meilleur étalement et une meilleure pénétration des crèmes.

- . L'acide stéarique :

Corps gras largement utilisé en cosmétologie, l'acide stéarique est destiné à donner du corps aux émulsions.

- . L'huile de lanoline (fabricant Gattefossé) :

C'est la fraction liquide obtenue par extraction d'une lanoline raffinée. Elle est constituée par les esters des acides les moins condensés en carbone.

liquide visqueux, possédant toutes les propriétés de la lanoline normale, en ce qui concerne l'hydrophilie, et pouvant la remplacer dans tous ses emplois.

Elle est surtout utilisée pour son caractère pénétrant, émollient et son aptitude à reconstituer le film hydrolipidique cutanée. Elle ne possède pas le caractère gênant de la lanoline normale collante et poisseuse.

Les Parfums :

Fournisseurs : ROURE - BERTRAND - DUPONT

— Mode opératoire.

. Formule à base de Tefose 1500

Le conservateur est dissous dans la phase aqueuse. On chauffe à part, la phase aqueuse et la phase grasse à 70° C. On incorpore la phase aqueuse dans la phase grasse, lentement, et on agite jusqu'à refroidissement du mélange. On incorpore alors le parfum.

. Crèmes anioniques acides.

Tous les constituants, sauf le parfum, sont chauffés à 70°. On refroidit le mélange sous agitation lente. On incorpore le parfum quand le mélange est à peine tiède.

— Caractéristiques des crèmes obtenues. Commentaires.

Les crèmes réalisées au cours de ces premiers essais et leurs caractéristiques sont consignées dans les Tableaux 21 et 22. Ces formules ont été retenues parmi une série d'essais pour la qualité des émulsions obtenues.

D'une façon générale, ces crèmes ont un toucher agréable et pénètrent bien. L'odeur désagréable des échappées, qui sont diluées dans un solvant inodore, est ici plus facilement masquée avec des parfums qui ne sont pas trop lourds et en quantité raisonnable.

— Résultats des tests de stabilité accélérée.

Les crèmes préparées précédemment ont été conservées à l'étuve à +37° C. durant 60 jours.

La formule 1 donne une légère exsudation en surface à partir de 30 jours de conservation.

Les formules 2 et 3 exsudent de manière beaucoup plus importante avec un changement de coloration de la crème. La formule 1 est acceptable car le changement d'état de la crème n'est pas très important. La formule à base de Téfose sera donc retenue, pour les prochains essais, comme formule - type.

2.3.2. Deuxième série d'essais.

Partant d'une matière première qui est un concentré de défauts cosmétiques (hétérogénéité de la masse - couleur - odeur), la première série d'essais de solubilisation des échappées dans un solvant huileux nous apporte des résultats plus qu'encourageants. Elle laisse entrevoir la possibilité d'obtenir une matière première convenable sans avoir recours à des procédés de transformation sophistiqués, moyen que nous avons toujours voulu éviter.

TABLEAU 21 : Formules de la 1ère série d'essais

FORMULES CONSTITUANTS	1	2	3	4
Téfose 1500	10	—	—	—
Sedefos 75	—	18	18	18
Acide stéarique	2	—	—	—
Labrafil M 2130 CS	3	3	—	—
Mélange*	10	10	10	10
Lanoline	—	—	10	10
Fondix G	—	0.1	0.1	0.1
Acide sorbique Méthoxyde sodé	0.1	—	—	—
Eau Q.S.P.	100	100	100	100
Parfum Digitale	0.1	0.1	—	—
Parfum Origan	—	—	0.1	—
Parfum Flamen	—	—	—	0.1

Mélange : Echappées 50 %
Isostéarate d'isostéaryle 50 %

TABLEAU 22 : Caractéristiques des crèmes correspondant aux premiers essais.

CREMES CARACTERISTIQUES	1	2	3	4
pH	6.2	5.7	5.5	5.5
Réversibilité	bonne	bonne	bonne	bonne
Couleur	mastic	beige	beige très clair	beige foncé
Odeur	sucrée	sucrée	épicée	celle du Baume de Tolu
Consistance et Comportement	onctueuse facile à étaler pénètre bien	moins grasse que 1 mais plus épaisse blanchit à l'étalement	plus pâteuse que 2 blanchit à l'étalement	Très épaisse blanchit à l'étalement

2.3.2.1. Diluants sélectionnés.

Les produits retenus sont les suivants :

- EUTANOL G (fabricant HENCKEL)
- EUTANOL HD "
- CETIOL V "
- MYRITOL 318 "
- MIGLYOL 812 (fabricant DYNAMIT NOBEL)
- MIGLYOL 840 "
- NEOBEE M5 (fabricant PVD)
- NEOBEE M 20 "
- PCL Liquid (fabricant DRAGOCO)
- WICKENOL 155 (fabricant WICKEN-CFPA)
- PROCETYL 10 (fabricant Marcel Quarré)
- POLYSYNLANE (fabricant ARNAUD)
- CRODEMOL (fabricant Marcel Quarré)

. EUTANOL G : 2 - OCTYL DODECANOL

C'est un produit de condensation d'alcools gras saturés, un liquide huileux limpide. Etant donné son caractère saturé, il est peu réactif et constitue ainsi une substance.- véhicule idéale.

Caractéristiques :	Indice d'acide	< 0.5
	Indice de saponification	< 10
	Indice d'iode	< 10
	Indice d'hydroxyle	165 - 180

. EUTANOL HD

Il se présente sous forme d'un liquide huileux incolore clair et limpide.

C'est un alcool gras, non saturé, à poids moléculaire supérieur, ayant d'excellentes qualités solubilisantes. Il n'irrite ni la peau ni les muqueuses.

Indice d'acide	< 0.2
Indice de saponification	< 1
Indice d'iode	90 - 96
Indice d'hydroxyle	208
Densité à 20°	0.85

. CETIOL V : DECYLESTER D'ACIDE OLEIQUE.

Utilisé comme solvant pour médicaments liposolubles, il est très stable grâce à sa liaison - ester solide et possède une grande efficacité pour les graisses biologiques de la peau.

Indice d'acide	< 1
Indice de saponification	130 - 140
Indice d'iode	55 - 65
Indice d'hydroxyle	< 5
Densité à 20°	0,87

. MYRITOL 318 : Triglycéride de l'acide caprique - caprylique

Le Myritol 318 présente une excellente stabilité à froid. Sa faible teneur en substances non saturées et son faible indice d'acide lui confèrent une bonne stabilité chimique. Il possède de très bonnes propriétés solvantes pour de nombreuses substances liposolubles du secteur cosmétique.

. MIGLYOL 812

C'est une huile neutre, un mélange de triglycérides d'acides gras saturés d'origine végétale à longueur de chaîne moyenne. Il peut être employé comme agent solubilisateur et produit de remplacement de diverses huiles et graisses. C'est un produit reconnu non irritant.

Indice d'acide	< 0.1
Indice de saponification	325 - 345
Indice d'iode	1
Densité à 20°	0.94 - 0.96

. MIGLYOL 840

Diester du propylène - glycol et d'acides gras saturés d'origine végétale en C8 - C10.

Indice d'acide	< 0.1
Indice de saponification	320 - 340
Indice d'iode	1
Densité à 20°	0.92

. PCL Liquid

C'est un mélange d'esters d'acides gras à ramification alcoylée, à bas point de congélation

Indice d'acide	0 à 1
Indice d'esters	135 - 160
Indice d'iode	0 à 1
Densité à 20°	0.85

. NEOBEE M5

C'est la fraction triglycéridique d'huile de coco reconstituée pour obtenir une huile soluble dans l'alcool, très fluide, très stable à l'oxydation.

Cette huile végétale saturée possède des caractéristiques de solubilité de l'huile de Ricin mais supérieures en ce qui concerne la fluidité, la rancidité, la résistance à l'oxydation.

Inodore

Sans saveur

Très faible indice d'irritation (0.5)

. NEOBEE M 20

C'est un diester de polyol d'acides gras à chaîne courte d'origine végétale.

Agréé comme additif alimentaire par la FDA (Food and Drug Administration) il présente une excellente solubilité hydroalcoolique, une faible irritation cutanée (1.16)

. WICKENOL 155 : 2, Ethyl - Hexyl - Palmitate

Indice d'acide	1
Indice d'iode	1
Indice d'esters	146 - 156
Densité à 20°	0.85

..POLYSYNLANE

C'est une paraffine cyclique substituant du COSBIOL (squalène hydrogéné) utilisé préférentiellement pour reconstituer le film hydrolipidique cutané.

. CRODEMOL (ICIS)

C'est un stéarate d'isocétyle.

. PROCETYL 10

C'est un alcool cétylique oxypropyléné.

2.3.2.2. Obtention des mélanges.

La matière première brute (échappées) est fondue au bain-marie, homogénéisée. Nous avons choisi délibérément les échappées de Soja car elles sont les plus difficiles à solubiliser. On prépare des mélanges 50 : 50 (v/v) d'échappées et de chacun des solvants sélectionnés.

Pour chaque mélange on effectue trois échantillons que l'on conditionne dans des flacons en verre, hermétiquement fermés, placés dans des endroits différents.

- sur une étagère à température ambiante
- à température extérieure
- au réfrigérateur.

Rappelons que ce test a pour but d'observer une éventuelle séparation de phase des échantillons ou une recristallisation sous l'effet du froid ou des fluctuations de température. Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau suivant où :

L : température du laboratoire (20° C)
 R : température du réfrigérateur
 E : température extérieure.

2,3,2,3. Formulation.

Au stade de la formulation galénique nous nous sommes fixés deux buts principaux.

- d'une part l'obtention d'une crème stable dont la tolérance cutanée sera testée sur le lapin.
- d'autre part, la mise au point d'une ou de plusieurs formules - type à proposer pour le dossier commercial de ce futur matériau cosmétique.

Les formules étudiées précédemment étaient des formules non recherchées, ayant pour seule fin l'appréciation organoleptique de notre matière première et non son comportement physico-chimique dans une émulsion.

Nous avons donc tenté d'élaborer des formules plus ou moins sophistiquées, telles qu'elles sont pratiquées dans un laboratoire de cosmétologie. Cela veut dire : mise en oeuvre d'un couple émulsionnant, de facteurs apportant une plus grande possibilité de stabilité tout en améliorant l'aspect, la consistance, la tenue d'une crème.

Les formules énumérées ci-dessous ont été étudiées par ordre chronologique, par dégrossissements successifs, compte-tenu du résultat immédiat que l'on obtenait.

Le test de conservation du mélange solvant / échappées, ainsi que la stabilité des crèmes fabriquées, fourniront le premier critère de choix du solvant idéal.

Nous avons choisi trois types différents de formulation :

- utilisation d'un couple émulsionnant
- utilisation d'une base autoémulsionnable anionique.
- utilisation d'une base autoémulsionnable non-ionique.

ECHANTILLONS	1ère SEMAINE			2ème SEMAINE			4ème SEMAINE			4ème SEMAINE		
	L	R	E	L	R	E	L	R	E	L	R	E
CETIOL V - ECHAPPEES	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
PCL. LIQUID-ECHAPPEES	+	-	2-	+	-	2-	+	-	2-	+	-	2-
EUTANOL HD - ECHAPPEES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
EUTANOL G - ECHAPPEES	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
WICKENOL - ECHAPPEES	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
PROCETYL - ECHAPPEES	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-
NEOBEE M5 - ECHAPPEES	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
NEOBEE M 20 - ECHAPPEES	+	-	2-	+	-	2-	+	-	2-	+	-	2-
MYRITOL 318 - ECHAPPEES	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+
MYGLIOL 812 - ECHAPPEES	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
MYGLIOL 840 - ECHAPPEES	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
POLYSYNLANE - ECHAPPEES	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-
CRODENOL - ECHAPPEES	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-	2-

N.B.

+ Limpide

- Figé

2 - Cristallisé

– Couple d'émulsionnant.

. Tableau des formules.

Les formules réalisées à base d'un couple émulsionnant figurent dans le Tableau 23.

Elles renferment les matières premières détaillées ci-après.

. Caractéristiques des matières premières.

Chaque fois que l'on parlera de "mélange" il s'agira de la matière première brute (échappées de Soja) diluée à 50 % dans l'un des solvants retenus.

Le couple Tween 60 – Arlacel 60 est peut être l'un des plus utilisés en tant qu'émulsionnant dans l'industrie cosmétique. Le BHT (Butyl Hydroxy Toluène) et le Fondix G sont l'anti-oxydant et le conservateur.

L'huile de vaseline participe à l'émulsion ; elle donne du glissant et maintient la préparation à la surface de la peau. Le Myristate d'isopropyle, qui se présente comme un corps léger mobile, est très apprécié en cosmétologie. Il augmente la pénétration de certains produits comme la lanoline et les huiles végétales.

Il a la particularité appréciable de combiner l'émollience et la pénétration et fournit un certain onctuosité, un certain toucher.

. Mode opératoire.

La phase grasse contenant l' Arlacel 60 et l'antioxydant est chauffée à 80° C. On chauffe à la même température la phase aqueuse contenant le Tween 60 et on la verse dans la phase grasse lentement, en agitant.

On refroidit l'émulsion sous agitation lente et uniforme.

. Caractéristiques du produit fini.

Nous avons préparé 13 crèmes, pour chaque formule et avec les 13 mélanges échappées / solvant.

Le résultat fut toujours négatif pour la formule 1 : on obtient plutôt un lait extrêmement fluide qu'une crème. L'émulsification ne se fait pas, il faudra changer la proportion des deux tensio-actifs, ce qui nous conduit à la formule 2. Dans cette dernière, nous avons ajouté les produits épaississants: l'acide stéarique et l'alcool cétylique. Nous avons donc changé la proportion des tensio-actifs et diminué l'importance de la phase aqueuse.

Les proportions de tensio-actifs ont été modifiées en faveur du Tween 60 dans l'espoir d'améliorer l'émulsification et en prenant comme critère un HLB approximatif de l'huile de Soja. Cette formule ne donne pas les résultats escomptés probablement parce que il y a trop de corps gras pour un pourcentage relativement faible d'émulsionnants.

TABLEAU 23 : Deuxième série d'essais

FORMULES CONSTITUANTS	1	2	3
Acide stéarique		2	
Alcool cétylique		8	3
Mélange	10	10	10
Huile de Vaseline	5	10	7
Myristate d'Isopropyle	5	10	2
Arlacel 60	2.77	1.8	
B.H.T.	0.05	0.05	
Tween 60	2.23	3.2	2
Fondix G	1	1	
Eau déminéralisée	73.75	53.75	62.6
Arlacel 165			5
Labrafil M 2130 CS			3
Methoxyde sodé			0.4
Sorbitol			4

On remplacera donc, dans la formule 3, l'Arlacel 60 par un Arlacel de HLB supérieur, l'Arlacel 165.

Le changement de tensio-actif et la présence d'une base facilitant l'émulsification (Labrafil M 2130 CS) donnent un résultat positif. Nous obtenons une bonne émulsification des phases grasse et aqueuse bien que les crèmes obtenues ne soient pas assez épaisses. Il y a donc un risque de "casse" des émulsions. Pour améliorer l'émulsion obtenue nous avons remplacé une partie de l'eau par du Sorbitol. Ce dernier est un agent humectant qui donne une sensation de fraîcheur qui peut contrebalancer la sensation chaude des corps gras.

– Utilisation de bases autoémulsionnables.

. Tableau des formules.

Le tableau 24 présente une formule à phase continue aqueuse acide et trois formules non ioniques.

. Caractéristiques des matières premières.

En plus des matières premières utilisées lors de la première série d'essais nous avons eu recours au :

- SEDEFOS qui est un palmitostéarate de glycols rendu autoémulsionnable par un dérivé phosphorique d'alcool gras de type anionique acide.

- Gel de Carbopol 934 neutralisé par l'ammoniaque.

le Gel de Carbopol 934 est un polymère carboxyvinyle de haut poids moléculaire.

Le gel remplace une partie de la phase aqueuse de l'émulsion. C'est un agent épaississant et un facteur de stabilité.

. Mode opératoire

- La formule 4 à base de Sédafos se prépare comme les formules 2 et 3.

- les formules à base de Gel :

la phase aqueuse contenant le gel et le conservateur est homogénéisée et chauffée à 70° C. On l'incorpore, sous agitation lente à la phase grasse, également chauffée à 70° C. On refroidit en continuant l'agitation.

. Caractéristiques du produit fini.

Dans la formule 4 nous avons remplacé le couple émulsif par un mélange de bases auto émulsionnables SEDEFOS – LABRAFIL. Le résultat n'améliore pas l'émulsion. Nous avons donc repris la formule sélectionnée au cours de la première série d'essais et nous avons essayé de l'améliorer.

TABLEAU 24 : Deuxième série d'essais (2)

FORMULES CONSTITUANTS	4	5	6	7
Mélange	10	10	10	10
Huile de vaseline	15	10	—	—
Myristate d'Isopropyle	7	—	—	—
Sédéfos	15	—	—	—
Labrafil M 2130 CS	3	—	3	3
Glycérine	5	16.5	—	—
Fondix G	0.1	—	—	—
Eau déminéralisée	43.7	—	46.85	20.7
Téfose 1500		10	10	10
Acide stéarique		1	2	2
Gel de Carbopol 934		52.1	26.15	52.3
Deshydroacétate de sodium		0.4	—	—
Acide sorbique			0.07	0.07
Methoxyde sodé			0.03	0.03

CREMES à base de	FORMULE	pH	VISCOSITE en CP	STABILITE A 20°	STABILITE A 45° C		
					48 h	Sept Jours	Un Mois
CETIOL V	3	4.55	2.800	-	-		
MYRITOL 318	3	4.65	2.700	-	-		
EUTANOL G	3	4.75	2.400	-	-		
EUTANOL HD	3	4.75	2.700	-	-		
CRODEMOL	3	4.80	3.600	-	-		
PCL LIQUID	3	4.85	2.600	-	-		
WICKENOL	3	4.75	2.700	-	-		
PROCETYL 10	3	4.70	3.700	+	+	-	
POLYSYNLANE	3	4.75	2.700	+	+	-	
MIGLYOL 812	3	4.75	2.700	-	-		
MIGLYOL 840	3	4.80	2.600	-	-		
NEOBEE M5	3	4.70	2.800	+	+		
NEOBEE M 20	3	4.70	2.200	-	-	+	-

CREMES à base de	FORMULE	pH	VISCOSITE en CP	STABILITE A 20°	48 h	STABILITE à 45° C Sept Jours	Un Mois
CETIOL V	6	6	3.200	-	-		
MYRITOL 318	6	6.10	4.000	-	-		
EUTANOL G	6	6.20	2.900	+	+	-	
EUTANOL HD	6	5.89	3.100	+	+	+	-
PCL LIQUID	6	6.25	3600	-	-		
WICKENOL	6	6.20	4.100	+	+	+	-
PROCETYL 10	6	6.20	4.400	-	-		
CRODEMOL	6	5.59	4.100	+	+	+	-
POLYSYNLANE	6	5.62	10.000	+	+	+	+
MYGLYOL 812	6	6.25	4.100	-	-		
MYGLYOL 840	6	6.25	3.800	-	-		
NEOBEE M5	6	6.2	3.400	+	+	+	+
NEOBEE M 20	6	5.90	4.600	+	+	+	-

CREMES à base de	FORMULE	pH	VISCOSITE en CP	STABILITE A 20°	STABILITE à 45° C		
					48 h	Sept jours	Un mois
CETIOL	7	5.10	3.200	-	-		
MYRITOL 318	7	5.20	3.400	-	-		
EUTANOL G	7	5	3.200	-	-		
EUTANOL HD	7	5	3.600	-	-		
PCL - LIQUID	7	5.10	3.200	-	-		
WICKENOL	7	5	3400	-	-		
PROCETYL 10	7	5	3.400	-	-		
CRODEMOL	7	5.10	4.000	+	+	-	
POLYSYNLANE	7	5	3.400	+	+	+	±
MYGLYOL 812	7	5.10	3.200	-	-		
MYGLYOL 840	7	5.10	3.200	-	-		
NEOBEE M5	7	5.10	4.100	+	+	+	+
NEOBEE M20	7	5.10	3.800	+	+	+	±

Dans la formule 5, non - ionique, nous avons réintroduit l'acide stéarique pour donner du corps à l'émulsion. Dans la phase aqueuse l'eau a été remplacé par un épaississant : le gel de Carbopol.

En pratique, nous obtenons une émulsification insuffisante. La crème 5 étant trop fluide, nous avons ajouté le Labrafil afin d'améliorer l'émulsion et l'acide stéarique a été augmenté pour l'épaissir.

L'eau de la phase aqueuse a été répartie sous forme de gel et sous forme d'eau libre.

On obtient une bonne émulsion (réversibilité positive) dont il faudra cependant améliorer la consistance.

Dans la formule 7, nous avons changé les proportions des constituants de la phase aqueuse en faveur du gel.

Nous obtenons le résultat escompté, c'est à dire une très bonne émulsification, une bonne consistance et un aspect agréable.

Sur les 7 formules étudiées, avec tous les produits, c'est à dire les 13 mélanges, les formules retenues sont les numéros 3, 6 et 7.

Nous étudierons l'évolution dans le temps de ces crèmes, à température ambiante et à l'étuve à 45° C.

CONCLUSION :

Les tests de stabilité ont permis de sélectionner cinq mélanges stables à température ordinaire et plus ou moins indifférents aux variations de température.

Ce sont . par ordre de qualité décroissant, les mélanges à base de :

EUTANOL HD
NEOBEE M5
MYRITOL 318
CETIOL V
WICKENOL.

D'autre part, les émulsions fabriquées ont subi un test assez éprouvant, en l'occurrence le vieillissement accéléré à l'étuve à +45° C. Les mélanges ayant donné les meilleurs résultats en formulation sont ceux à base de Neobee M5 et de Polysilane.

Nous avons retenu pour les tests de tolérance cutanée le mélange à base de Neobee M5 et la formule 7.

2.3.3. Troisième série d'essais.

Nous rappelons que le Neobee M5 est une fraction triglycéridique d'huile de Coco. Il a été retenu comme solvant des échappées de Soja en fonction des caractéristiques suivantes :

- il s'est révélé un très bon solubilisateur de ces échappées.
- le mélange qu'il forme avec ces échappées est le plus stable.
- en formulation ce mélange donne les meilleurs résultats.
- c'est un produit chimiquement stable.
- il est doué d'une parfaite innocuité
- son prix de revient est relativement bas.

Cette troisième série d'essais va mettre en évidence le comportement de Neobee M5 avec les autres échappées à diluer : échappées de Maïs et d'Arachide.

Toutefois, puisque, bien que modifiée, il s'agit d'une huile végétale, nous avons voulu essayer de lui substituer dans un but de simplification et de diminution de prix de revient, les huiles végétales classiques du commerce, à savoir :

- huile de Soja
- huile de germes de Maïs
- huile de noyaux
- huile de tournesol
- huile de noisettes,

ajoutées systématiquement aux trois échappées à étudier. Les différents mélanges obtenues ont été incorporés dans la formulation n° 7. L'étude de la stabilité des mélanges eux-mêmes ainsi que celle des crèmes fabriquées avec ces mélanges figurent dans les tableaux 25 et 26.

Dans cette dernière série d'essais, le Neobee M5 reste le produit le plus constant. Les huiles végétales utilisées donnent en général des mélanges limpides à température ordinaire mais qui se troublent ou cristallisent soit à froid, soit sous l'effet des variations de température. L'agitation ou la filtration éliminent ces inconvénients que l'on peut cependant considérer comme des défauts certains. Seules les échappées de Maïs donnent d'excellents résultats avec l'huile de Noisettes. De plus, extraire des insaponifiables d'une huile végétale pour les rediluer dans une autre huile végétale simplement raffinée peut paraître illogique et avoir un impact commercial défavorable.

C'est pourquoi nous n'avons pas poursuivi nos recherches dans ce sens.

TABEAU 25 : Stabilité des mélanges de la série 3

MELANGES	PREMIERE SEMAINE			DEUXIEME SEMAINE		
	L	R	E	L	R	E
Echappées de Soja / Huile de Soja	+	-	-	+	-	-
Echappées de Soja / Huile de Noyaux	+	-	-	+	-	-
Echappées de Soja / Huile de Germes de Maïs	+	-	-	+	-	-
Echappées de Soja / Huile de Tournesol	+	-	-	+	-	-
Echappées de Soja / Huile de Noisettes	+	+	+	+	-	+
Echappées de Maïs / Huile de Noisettes	+	+	+	+	-	+
Echappées de Maïs / Neobee M5	+	+	+	+	-	+
Echappées d'Arachide / Huile de Noisettes	+	-	+	+	-	+
Echappées d'Arachide / Neobee M5	+	-	+	+	-	+
Echappées de Soja / Neobee / Huile de Noisettes	+	-	+	+	-	+
Echappées de Soja / Neobee / Huile de Noisettes	+	+	+	+	-	+
Echappées d'Arachide / Neobee / Huile de Noisettes	+	-	+	+	-	+

MELANGES	TROISIEME SEMAINE			QUATRIEME SEMAINE		
	L	R	E	L	R	E
Echappées de Soja / Huile de Soja	+	—	2 —	+	—	2 —
Echappées de Soja / Huile de Noyaux	+	—	—	+	—	—
Echappées de Soja / Huile de Germe de Maïs	+	—	—	+	—	—
Echappées de Soja / Huile de Tournesol	+	—	2 —	+	—	2 —
Echappées de Soja / Huile de Noisettes	+	—	2 —	+	—	2 —
Echappées de Maïs / Huile de Noisettes	+	—	+	+	—	+
Echappées de Maïs / Neobee M5	+	—	+	+	—	+
Echappées d'Arachide / Huile de Noisettes	+	—	—	+	—	—
Echappées d'Arachide / Neobee M 5	+	—	+	+	—	+
Echappées de Soja / Neobee M5 / Huile de Noisettes	+	+	—	+	—	—
Echappées de Maïs / Neobee M5 / Huile de Noisettes	+	—	+	+	—	+
Echappées d'Arachide / Neobee M5 / Huile de Noisettes	+	—	—	+	—	2 —
L : température du Laboratoire		+	Limpide			
E : température extérieure		—	Figé			
R : température du réfrigérateur		2 —	Cristallisé			

TABLEAU 26 : Stabilité des crèmes de la série 3

CREMES à base de	pH	VISCOSITE en CP	STABILITE A 20°	48 H	STABILITE A 45° Sept jours	Un mois
Huile de Noyaux / Echappées de Soja	4.9	2.500	-			
Huile de Soja / Echappées de Soja	4.9	2.400	-			
Huile de Maïs / Echappées de Soja	5.1	2.600	-			
Huile de Tournesol / Echappées de Soja	5.1	2.600	-			
Huile de Noisettes / Echappées de Soja	4.60	3.200	+	Exsudat	-	
Huile de Noisettes / Echappées de Maïs	4.60	3.200	+	+	+	+
Neobee M5 / Echappées de Maïs	4.70	3.800	+	+	+	+
Huile de Noisettes / Echappées d'Arachide	5.10	3.200	+	+	-	
Neobee M 5 / Echappées d'Arachide	5.15	3.600	+	+	+	+
Huile de Noisettes / Neobee M5 / Echappées de Soja	4.60	3.400	+	+	-	

3. Conclusions.

En définitive deux solvants sont à retenir :

- le Neobee M5
- l'Isostéarate d'isostéaryle.

Nous avons évoqué les avantages du premier, quant au second on ne peut envisager son emploi qu'en deuxième position pour deux raisons : d'une part, il n'a pas à ce jour subi de tests de toxicité, d'autre part son prix est relativement élevé.

Afin de concrétiser les résultats obtenus nous pouvons proposer un modèle de fiche technique du type suivant :

PRODUIT X

. Définition : Produit obtenu par dilution de concentrats d'huile de Maïs, riches en composés non glycéridiques, dans une huile neutre.

. Aspect : Liquide huileux, de couleur ambre, à faible odeur sui generis.

CARACTERES PHYSICO-CHIMIQUES :

- . soluble sans les huiles végétales et minérales.
- . insoluble dans l'eau
- . indice d'acide
- . indice de saponification
- . indice d'iode
- . pH : 6.5

COMPOSITION : Ce produit contient principalement :

- . des triglycérides
- . des acides gras libres
- . des insaponifiables.

CONSERVATION : Conserver à l'abri de l'air et de la chaleur. Ne renferme pas de conservateur.

PRESENTATION : Bidon en aluminium vernis.

PROPRIETES : Les insaponifiables contenus dans ce produit sont doués de propriétés vitaminique, hydratante, assouplissante.

APPLICATIONS : Produit cosmétique et de dermopharmacie à utiliser sous forme de :

- crèmes de soins
- laits de toilette.

DOSE D'EMPLOI : 5 à 10 %

EXEMPLE DE FORMULE

Produit X	10
TEFOSE 1500	10
Acide stéarique	2
Labrafil M 2130 CS	3
Gel de Carbopol 934 à 5 %	52.3
Eau déminéralisée	20.7
Acide sorbique	0.07
Methoxyde sodé	0.03
Parfum	Q.S.



TROISIEME PARTIE



TOLERANCE et ACTIVITE

I – TOLERANCE.

On ne peut envisager actuellement le lancement d'un produit sur le marché cosmétique sans avoir la preuve de son innocuité. Aussi, avant d'étudier une éventuelle activité des "échappées de désodorisation", était-il nécessaire et évident de les soumettre aux tests de tolérance exigés par la législation en vigueur et qui consistent en :

- une évaluation de l'irritation oculaire.
- une évaluation de l'irritation primaire cutanée
- une appréciation des réactions cutanées après applications itératives.

– Echantillons étudiés :

– "l'échantillon pur" représenté par un échantillon "d'échappées de désodorisation" de l'huile.

– le "mélange" représenté par un mélange : "échantillon pur" / Huile Neobee M5 (50 : 50)

– la "crème" phase continue aqueuse contenant 10 % du mélange précédent.

1. Détermination de l'indice d'irritation cutanée primaire (I.C.P.)

Le test est appliqué aux échappées d'huile de SOJA sous leurs trois formes :

- échantillon pur
- mélange
- crème.

1.1. Protocole

La méthode utilisée est celle décrite dans le Journal Officiel (160) (21 avril 1971, p. 3862) complété par l'arrêté du 16 avril 1973 (161).

Toutefois quelques modifications ont été apportées à cette technique :

. On a utilisé, pour chaque produit, trois lapins "Albinos" de sexe mâle, provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur de LYON (Domaine du Poirier) et pesant $2,5 \pm 0,2$ kilos. Ces animaux ont reçu comme nourriture des "croquettes entretien U A R" et de l'eau ad libitum.

. les animaux ont eu les flancs tondus, électriquement 24 heures avant l'essai, mais aucun rasage supplémentaire n'a été pratiqué de façon à ne pas irriter la peau.

PRODUITS	LAPIN I				LAPIN II				LAPIN III				Indice Total dans 24 notes / 12
	24 h.		72 h.		24 h.		72 h.		24 h.		72 h.		
	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	
ECHANTILLON													
Erythème	0	0	0	0	1,5	1,5	0	0	1,5	1,5	0	0	0,5
Oedème	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MELANGE													
Erythème	1	1	0	0	1	1	0	0	1,5	1,5	0	0	0,6
Oedème	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CREME													
Erythème	1,5	1,5	0	0	2	2	0	0	1,5	1,5	0	0	0,8
Oedème	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

“N” peau normale
“S” peau scarifiée

TABEAU 27: I C P

PRODUITS	LAPINS N°	1e j.		2e j.		3e j.		4e j.		7e j.	
		C _J	C _R	C _J	C _R	C _J	C _R	C _J	C _R	C _J	C _R
ECHANTILLON PUR	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MELANGE	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CREME	9	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C_J conjonctive

C_R cornée

TABLEAU 28 : I.O.

Aucune conjonctivite, ni atteinte cornéenne ne s'étant développée, ces produits sont apparus dénués de pouvoir irritant oculaire.

. l'application des produits a été réalisée en suivant les prescriptions officielles, exception faite du remplacement du rectangle de mousse par un rectangle de coton, le maintien de l'ensemble étant réalisé par une bande de sparadrap large perforé et un harnais de tissu épais.

. l'évaluation de l'irritation cutanée primaire a été réalisée 24 à 72 heures après l'application du produit, par deux observateurs.

. la notation des résultats a été faite suivant les recommandations habituelles avec un degré d'évaluation supplémentaire entre léger érythème (côté 1) et érythème bien visible (coté 2) qui s'accompagne d'un phénomène variqueux. On a donc noté 1,5 un érythème bien visible mais sans lésions vasculaires.

1.2. Résultats et interprétation.

Les résultats sont réunis dans les tableaux suivants (27 et 28) :

Les 3 échantillons essayés sont dotés d'un pouvoir irritant primaire peu important. Les seules réactions observées furent un érythème à la 24ème heure suivi à 72 heures par une légère desquamation cutanée. On note, en outre, la croissance de l'indice d'irritation lorsque l'on passe de l'échantillon pur au mélange puis à la crème. Cet effet peut être dû à une pénétration beaucoup plus importante du mélange et de la crème.

2. Détermination de l'irritation oculaire (I.O.)

Ce test est également effectué sur les échappées de l'huile de SOJA sur le même échantillonnage que précédemment.

2.1. Protocole

Nous avons mis en oeuvre la méthode officielle (162) (21 avril 1971, p. 3883) en y apportant les modifications suivantes :

. Pour chaque produit on a utilisé quatre lapins de race "Albinos", de sexe mâle, provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur de Lyon, et pesant $2,5 \pm 0,2$ kilos. Ces animaux ont été nourris comme les précédents.

. L'évaluation de l'irritation oculaire a été faite par deux observateurs dont un interne des hôpitaux spécialiste d'ophtalmologie. Les lésions iridiennes ont été examinées à l'aide d'un ophtalmoscope.

2.2. Résultats.

Ils sont réunis dans les tableaux suivants.

Dans les conditions expérimentales adoptées, les produits essayés apparaissent pratiquement dépourvus de toute action irritante sur l'oeil.

3. Test d'évaluation de l'agressivité superficielle cutanée par application itératives.

L'application topique répétée d'un certain nombre de produits pendant une longue période fait apparaître des réactions qui, souvent, ne peuvent être décelées au cours des tests d'irritation primaire ou de sensibilisation.

On révèle ainsi les intolérances de "sommation".

3.1. Echantillonnage.

Nous avons effectué cette étude en deux temps :

— Dans un premier temps, seules les Echappées d'huile de SOJA ont été examinées sous forme :

Première
expérimentation

{	. échantillon pur . mélange . crème
---	---

— Dans un deuxième temps, ont été testés :

Deuxième
expérimentation

{	. les Echappées d'huile de Maïs sous forme d'échantillon pur . les Echappées d'huile d'Arachide également sous forme d'échantillon pur . un mélange Insaponifiables de SOJA - huile d'amande . un mélange insaponifiable de Luzerne - huile d'amande.
---	--

Nous présenterons successivement la Première et la Deuxième expérimentation.

3.2. Première expérimentation

3.2.1. Protocole

La méthode utilisée est celle décrite dans le Journal Officiel du 21 avril 1971 (annexe III, p. 3863) (163) complétée par l'arrêté du 9 février 1973 (Journal Officiel, p. 1539) (164) avec les modifications suivantes :

- chaque produit a été appliqué sur 3 lapins albinos mâles
- les flancs des animaux ont été tondus électriquement 24 heures avant la première application, puis régulièrement au moins une fois par semaine.
- l'application des produits a été faite chaque jour à 14 heures, la pénétration étant assurée par un massage manuel réalisé pendant 30 secondes exactement. La dose administrée a été celle absorbée pendant le massage.

- les animaux sont restés dans leur cage, sans protection particulière.
- la durée du traitement a été de 53 jours, les produits étant appliqués 5 jours sur 7.
- l'observation des réactions cutanées, ainsi que la pesée des animaux a été réalisée chaque semaine, dont deux fois (au milieu et à la fin du traitement) en collaboration avec un chef de clinique dermatologique.
- à la fin du traitement, une biopsie de peau a été réalisée après anesthésie locale à la xylocaïne, et fixée dans du liquide de BAKER.

3.2.2. Résultats.

3.2.2.1. Evolution pondérale des animaux.

Elle figure dans les Tableaux 29, 30, 31.

On constate que l'accroissement pondéral des animaux a, dans tous les cas, été normal. A noter toutefois, et pour l'ensemble des animaux, une légère stagnation entre la troisième et la quatrième semaine de l'étude. Celle-ci n'est pas due à l'administration des produits mais à un rationnement accidentel liés à des difficultés d'approvisionnement en granulés.

3.2.2.2. Agressivité superficielle cutanée.

Les observations sont réunies dans les tableaux 29, 30, 31 dont les légendes sont :
E : Erythème — O : oedème.

Leur intensité est codée selon les recommandations du Journal Officiel du 21 avril 1971 (voir page 125)

. Echantillon pur.

Tableau 29.

On note que son administration itérative s'est accompagnée d'une réaction inflammatoire et érythémateuse très marquée avec hyperkératose mais sans atteinte de l'état général des animaux. Une légère atténuation des signes peut être notée après la septième semaine d'application.

. Mélange

Tableau 30

Là encore on relève une réaction inflammatoire et érythémateuse après quatre semaines d'application. Mais, beaucoup plus faible que dans le cas précédent, elle va en s'estompant et ne laisse subsister à la huitième semaine qu'un léger érythème.

. Crème

Tableau 31

L'application de la crème s'accompagne de réactions cutanées d'importance encore plus faible, qui disparaissent presque complètement, après sept semaines.

3.2.2.3. Examen biopsique de la peau

A la fin de l'étude et comme indiqué sur les Tableaux , les biopsies de peau ont été effectuées chez les lapins :

N° 3 : côté témoin

côté soumis à l'application du "produit pur"

N° 6 : côté soumis à l'application du "mélange"

N° 9 : côté soumis à l'application de la "crème".

Le lieu des biopsies a été choisi pour être représentatif des lésions observées, en moyenne, sur la surface d'application.

Les résultats sont les suivants :

. Lapin n° 3 : côté témoin.

Epiderme extrêmement mince, la biopsie est de qualité moyenne et ne permet pas d'apprécier l'état du derme moyen et profond. Aucune anomalie dans le derme superficielle n'a été relevée.

. Lapin n° 3 : Côté traité (produit pur)

On note un discret infiltrat inflammatoire du derme papillaire sans localisation périvasculaire ou annexielle essentiellement constituée de cellules lympho-plasmocytaires.

. Lapins n° 6 (mélange) et 9 (crème)

L'aspect est sensiblement normal. L'activité de l'hémalum fait ressortir des fibres de collagène d'un rouge assez foncé, mais cet aspect est normal.

3.2.3. Conclusion.

L'application itérative des trois produits à base d'insaponifiables d'huile de Soja n'a pas été exempte de réactions cutanées. Les réactions ont atteint un maximum entre la cinquième et la septième semaine d'application pour diminuer ensuite.

L'intensité des phénomènes inflammatoires et irritatifs diminue nettement lorsque l'on passe du "produit pur" au "mélange" puis à la "crème". Cette dernière n'est encore pas totalement dénuée d'agressivité cutanée mais les réactions qui accompagnent son application itérative ne sont pas apparues d'une intensité exceptionnelle. Cette impression est d'ailleurs confirmée par l'absence d'altérations majeures à l'examen anatomopathologique des biopsies de peau réalisées.

3.3. Deuxième expérimentation.

3.3.1. Protocole.

Nous avons mis en oeuvre la méthode officielle (163) avec modification de la durée du traitement et de l'évaluation.

— Animaux utilisés

Trois lapins "Albinos" de sexe mâle et de race néo-zélandaise, pesant de 2,5 à 3.5 Kg environ au début de l'essai, vaccinés contre la Pasteurellose et la Myxomatose et sélectionnés après élimination des animaux présentant d'éventuelles lésions cutanées.

Quinze jours avant le début du test et pendant les 8 semaines de l'expérimentation les lapins sont maintenus dans un local climatisé, en cage individuelle.

La nourriture leur est fournie sous forme de granulés (granulés Lapin "Entretien" Sanders) à raison de 200 g par lapin et par jour. L'eau est donnée ad libitum.

— Préparation de la peau.

Les trois lapins sont tondus sur tout le dos et sur les flancs avec une tondeuse électrique munie d'un peigne très fin de manière à obtenir une coupe précise, sans irritation mécanique. Seuls sont retenus les animaux présentant une peau totalement saine, après repos de 6 heures.

La tonte est répétée en cas de nécessité, chaque lundi, 6 heures avant l'application du produit.

— Application de la substance

La préparation à contrôler est appliquée quotidiennement (5 jours sur 7) pendant huit semaines sur la totalité du flanc droit de chaque lapin, le flanc gauche servant de zone témoin symétrique pour l'appréciation des effets cutanés. On applique la totalité ou la quantité maximale possible de substance, soit environ 2 g/kg de poids vif par jour.

— Evaluation de la tolérance cutanée.

Les lapins sont suivis sur le plan de l'évolution pondérale, chaque semaine, et un examen de la peau est effectué quotidiennement avant chaque application, pour noter les réactions suivantes :

TABEAU 29. PRODUIT : "ECHANTILLON PUR"

DEPART		1	2	3	4	5	6	7	8	SEMAINES
LAPIN : 1	POIDS OBS.	1 kg 800 ----- E 2	2 kg 125 ----- E 2 peau sèche	2 kg 900 ----- E 2 peau sèche	2 kg 890 ----- O 4 E 4	3 kg 220 ----- O 4 E 4	3 kg 390 ----- O 4 E 4	3 kg 520 ----- O 4 E 4	3 kg 560 ----- O 3 E 4	hyperkeratose
LAPIN : 2	POIDS OBS.	2 kg 450 ----- E 2 boutons	2 kg 640 ----- E 2 peau sèche	2 kg 850 ----- E 2 peau sèche	2 kg 910 ----- O 4 E 4	3 kg 310 ----- O 4 E 4	3 kg 500 ----- O 3 E 4	3 kg 710 ----- O 3 E 3	3 kg 900 ----- O 2 E 3	hyperkeratose
LAPIN : 3	POIDS OBS.	2 kg 150 ----- E 2	2 kg 560 ----- E 2 peau sèche	2 kg 875 ----- E 2 peau sèche	2 kg 900 ----- O 4 E 4	3 kg 195 ----- O 4 E 4	3 kg 360 ----- O 4 E 4	3 kg 400 ----- O 3 E 3	3 kg 570 ----- O 2 E 3	Exsudation Hyperkeratose Biopsie Biopsie témoin

TABLEAU 31 : PRODUIT : "CREME".

DEPART											8 SEMAINES							
		1	2	3	4	5	6	7	8									
LAPIN : 7	POIDS	1 kg 820	1 kg 950	2 kg 300	2 kg 580	2 kg 500	2 kg 850	3 kg 280	3 kg 595	3 kg 600								
	OBS					O 2 E 2	O 2 E 2	O 2 E 4	E 2 peau sèche									
LAPIN : 8	POIDS	1 kg 950	2 kg 050	2 kg 130	2 kg 300	2 kg 140	2 kg 300	2 kg 670	2 kg 800	2 kg 870								
	OBS					O 2 E 2 présence de boutons	O 2 E 2	O 2 E 2	O 2 E 2 peau sèche	E 1								
LAPIN : 9	POIDS	2 kg 300	2 kg 400	2 kg 510	2 kg 870	2 kg 840	3 kg 285	3 kg 550	3 kg 770	3 kg 930	Biopsie							
	OBS					O 2 E 2	O 2 E 2	O 2 E 3	peau sèche									

. érythème : rougeur plus ou moins intense des téguments, disparaissant par la pression.

. oedème : infiltration séreuse du tissu conjonctif du revêtement cutané se traduisant par un gonflement indolore et sans rougeur qui garde quelque temps l'empreinte du doigt.

. épaissement et sécheresse de la peau.

. influence du traitement sur la repousse des poils.

— Echelle d'évaluation des anomalies.

Evaluation de l'érythème :

. Pas d'érythème	0
. Léger érythème	1
. Erythème bien visible	2
. Erythème très marqué	3
. Erythème grave avec formation de légères escarres	4

Evaluation de l'oedème

. Pas d'oedème	0
. Oedème très léger (à peine visible)	1
. Zone oedémateuse bien définie	2
. Oedème moyen (épaisseur environ 1 mm)	3
. Oedème grave (épaisseur supérieur à 1 mm)	4

Evaluation de l'épaississement de la peau

. Absence d'épaississement	0
. Léger épaississement avec aspect normal	± à +
. Epaississement important de la peau avec aspect normal	++ à +++
. Epaississement très prononcé (avec aspect rugueux)	++++

Evaluation de la sécheresse de la peau

. Pas de sécheresse (souplesse au toucher)	0
. Légère sécheresse	± à +
. Sécheresse bien visible	++ à +++
. Sécheresse de la peau très prononcée	++++

La repousse des poils, le degré de l'érythème, de l'oedème, l'épaississement et la sécheresse de la peau sont exprimés globalement, sur une semaine. La somme des degrés de l'érythème et de l'oedème, obtenue chaque semaine pour les trois lapins traités permet de calculer un Indice d'Irritation Moyen hebdomadaire, par animal, et de représenter sur une courbe son évolution (Fig. 9) suivant l'indice d'irritation obtenu, on classe arbitrairement la substance étudiée de la façon suivante :

Indice d'irritation moyen	Classification du produit
< 0.5	Non irritant
De 0.5 à 2	Légèrement irritant
De 2 à 5	Moyennement irritant
De 5 à 8	Sévèrement irritant

Remarque :

L'échelle d'irritation donnée par le Journal Officiel est générale et s'étend de 0 à 8 parce qu'elle peut s'appliquer à des substances chimiques caustiques.

Les érythèmes observés avec les produits cosmétiques ne dépassent jamais l'indice 2.

*Biopsie cutanée et examen histopathologique.

Après 8 semaines d'applications itératives, deux fragments de peau traitée d'aspect macroscopique éventuellement différent sont prélevés par biopsie stérile en vue d'un examen histologique.

3.3.2. Résultats et interprétation.

Les résultats sont réunis dans les tableaux suivants.

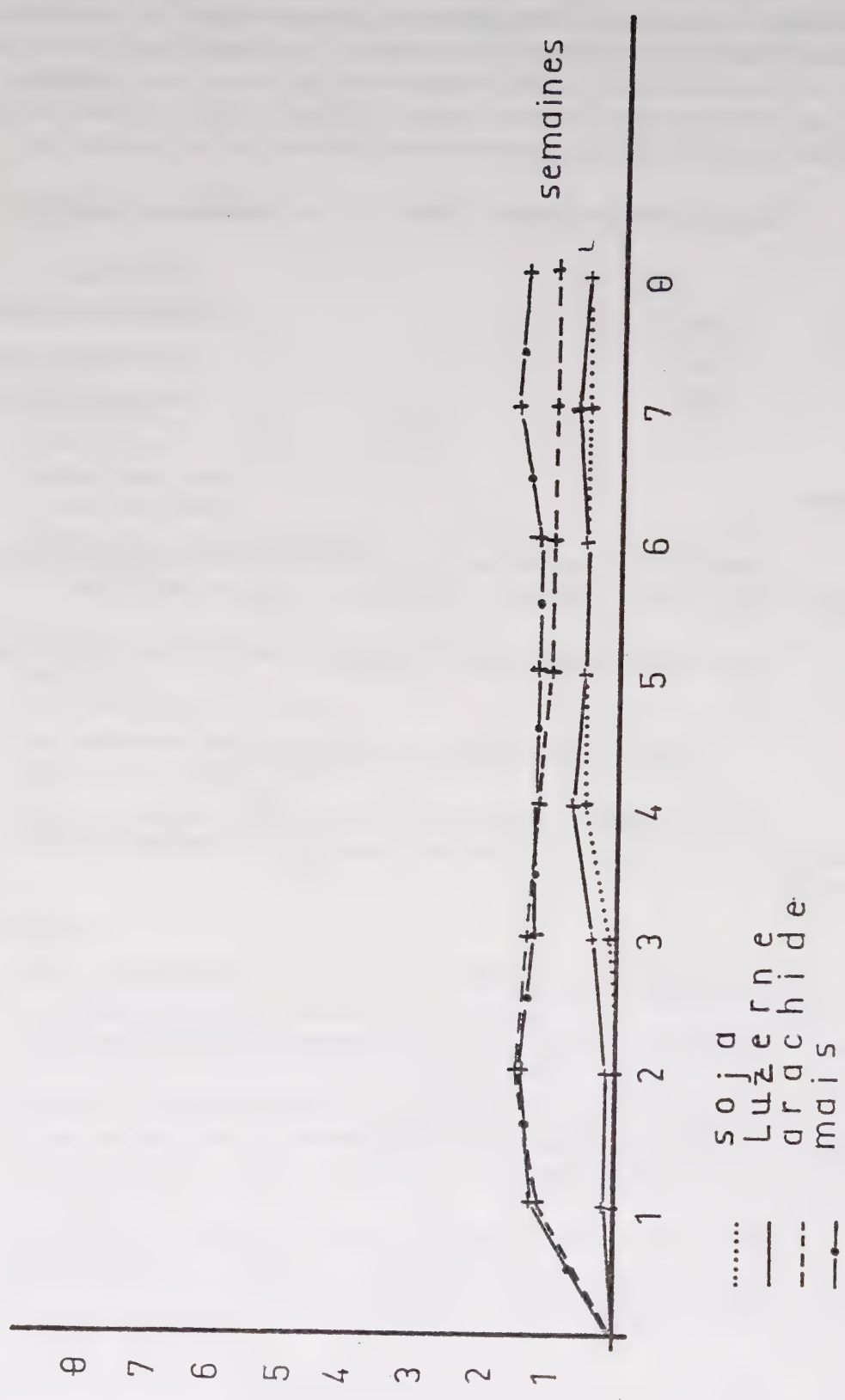
D'après le protocole expérimental et l'échelle d'évaluation adoptées, les Echappées d'Arachide et de Maïs apparaissent comme "légèrement irritant" durant les 8 semaines de traitement, (avec un indice d'irritation maximum de 1,50 à la 2ème semaine de l'essai).

Mais, l'examen macroscopique quotidien a permis de constater, pendant les 4 dernières semaines, un épaississement important de la peau, et la présence de vésicules dans le cas des Echappées d'Arachide, de vésicules et d'escarres dans le cas des Echappées de Maïs.

Pour les deux produits, l'examen histologique a révélé des images reflétant des ostias folliculaires et hyperplasie pilo-sébacée, le tout en rapport avec des lésions de la couche cornée, de type orthoergique.

APPLICATIONS ITERATIVES SUR LAPINS

FIGURE 9:
Indice d'irritation
moyen



En conclusion, les Echappées d'Arachide et de Maïs à l'état pur sont mal tolérées après 8 semaines d'applications itératives chez le lapin.

Par contre, les Insaponifiables purs de référence que nous avons testés dans les mêmes conditions que les Echappées sont, eux, parfaitement tolérés.

Nous pensons que l'intolérance manifestée par les animaux aux Echappées de désodorisation est due au traitement agressif subi par les huiles au cours de la purification.

Les Echappées recueillies à l'issue de ce traitement contiennent une part importante d'acides gras libres, en particulier d'acides gras à chaîne courte dont on connaît le pouvoir irritant.

Nous pensons que pour avoir une garantie dans l'utilisation des Echappées il faudrait envisager en amont une transformation du procédé industriel, ce qui paraît difficile, ou une purification des Echappées, solution a priori onéreuse qui ne correspond pas au but recherché, c'est à dire, la commercialisation du produit sans transformation importante.



II – ACTIVITE

Nous avons vu, dans le chapitre premier, les nombreuses observations qui font état de l'activité des insaponifiables, notamment dans le domaine de la peau.

Plusieurs auteurs ont eu effet évoqué un effet assouplissant, hydratant, anti-ichtyosique ; certains ont même soupçonné, étant donné la constitution chimique des insaponifiables, un effet positif sur le vieillissement cutané.

Les propriétés caractéristiques des "échappées de désodorisation" sont très peu différentes de celles des insaponifiables, voire même analogues. C'est pourquoi, nous avons tenté dans cette étude, d'évaluer à la fois l'effet des "échappées" et celui des insaponifiables, sur la peau.

Il existe de nombreuses méthodes permettant de mettre en évidence toutes ces activités et nous ne citerons ici que les principales.

— On peut s'assurer de la pénétration d'un produit par la technique des radio-traceurs basée sur la substantivité du produit appliqué.

La méthode consiste à déposer sur un lambeau de peau excisée, placé dans une cellule de diffusion, une quantité donnée de produit à tester, ce dernier étant marqué par un radio-élément. L'échantillon est ensuite élué par un agent approprié. L'élimination du composé est suivie dans le temps en mesurant la radioactivité de l'éluat. La quantité de substance qui reste sur la peau peut alors être déterminée.

— On peut examiner les modifications des propriétés électriques de la peau par :

- . mesure du pH cutané
- . mesure du pouvoir hydratant (114)

On réalise une hydratation sur un prélèvement de stratum cornéum et une dessiccation contrôlées.

Avant et au cours de ces opérations on procède à des pesées, ce qui permet de dresser des courbes d'hydratation et de deshydratation.

- . mesure de l'impédance (114)

On utilise des mesures électriques et diélectriques pour obtenir des informations sur les tissus biologiques. En ce qui concerne la peau, les courants continus et alternatifs basse fréquence se sont révélés particulièrement utiles pour étudier les cellules vivantes et le stratum cornéum.

On peut ainsi associer l'hydratation et la chute d'impédance.

— On peut également examiner les modifications des propriétés biologiques.

- . effet photoprotecteur
- . régulation des systèmes pilo-sébacées.

— On peut enfin évaluer les modifications des propriétés mécaniques de la peau :

- . test anti-friction (114)
- . test d'élasticité.

C'est ce dernier que nous avons retenu pour étudier l'efficacité cutanée des insaponifiables et des "échappées".

L'étude de l'élasticité cutanée fait principalement appel à la BIOMECHANIQUE qui est, elle-même, l'une des applications de méthodologie des sciences physiques.

La Biomécanique est un des moyens d'évaluation des affections internes et externes des tissus.

De nombreux auteurs l'ont utilisée pour connaître le comportement mécanique de la peau et, actuellement, nous savons comment définir et mesurer l'élasticité cutanée.

Nous avons fixé notre choix sur cette méthode pour les raisons suivantes :

— le Centre Technique du Cuir de Lyon, grâce à l'expérience confirmée de ses chercheurs, dans le domaine du Cuir et du Tissu Conjonctif, nous a permis de nous initier à ces méthodes.

— de plus, les travaux sur la "biomécanique de la peau en fonction de l'âge et des données biochimiques", réalisés au Centre Européen de Dermopharmacie nous ont inspiré un axe de recherche.

— enfin, l'étude de la biomécanique de la peau, in vitro, étant basée sur des méthodes physiques, nous a semblé réunir le maximum de garanties afin de fournir un protocole expérimental "objectif" de l'évaluation de l'effet que peut engendrer sur la peau l'application des insaponifiables et des "échappées" étudiés.

Cependant, pour comprendre la nécessité et la technologie de ces tests, il est nécessaire de connaître :

— la structure générale cutanée et plus particulièrement celle du STRATUM CORNEUM, et celle des différents constituants du DERME qui jouent un rôle prépondérant dans les propriétés mécaniques de la peau.

— les théories de RHEOLOGIE qui président et conditionnent l'étude de l'élasticité.

– les propriétés mécaniques de la peau et le rôle des divers constituants de la peau dans ces propriétés.

Nous étudierons successivement ces différentes parties

1. Structure générale cutanée.

La peau est un appareil de revêtement, à structure stratifiée, composée de deux couches principales :

- . une couverture extérieure : l'épiderme.
- . un ensemble de tissus de soutien : le derme.

L'épaisseur de chaque couche varie selon les différentes parties du corps, le derme étant toujours plus épais.

1.1. L'Epiderme.

L'épiderme est composé de cellules et de débris cellulaires. La reproduction continue des cellules épithéliales à la jonction dermo-épidermique entraîne la migration de ces cellules vers la surface externe, ces cellules se kératinisant à mesure qu'elles progressent.

Les étapes successives de ce processus de transformation caractérisent les cinq couches qui forment l'épiderme (223).

- Le stratum germinatum ou membrane basale.

A la jonction dermo-épidermique, la membrane basale est constituée d'une seule assise de cellules épithéliales alignées en colonne. Juste au dessus de cette assise sont dispersés les mélanocytes qui, sous l'influence de la lumière déposent dans l'épiderme les pigments que sont les mélanocytes. Ces pigments forment une couverture autour des cellules et les protègent du soleil en absorbant les ultra-violets.

- La couche de Malpighi (stratum spinosum)

Cette couche est constituée de plusieurs assises de cellules polyédriques, chacune d'elles étant séparée des autres par de courtes saillies qu'elle porte à la surface.

La présence de nombreux ponts intercellulaires crée un espace libre entre les cellules.

— Le stratum granulosum ou couche granuleuse.

Dans cette couche, il se produit peu à peu une dégénérescence du noyau des cellules, et, des ponts intercellulaires se traduisant par l'apparition de granules de kératohyaline à l'intérieur du cytoplasme des cellules.

La plupart des cellules meurent avant d'atteindre la couche suivante :

. le stratum lucidum ou couche transparente. On ne peut distinguer individuellement les cellules provenant de la couche granuleuse.

. le stratum corneum ou couche cornée. C'est la dernière couche de l'épiderme et c'est aussi la plus épaisse. Dans cette assise, la kératine qui a remplacé les noyaux et le cytoplasme est de la kératine douce (soft keratine) .

Nous étudierons plus particulièrement le stratum cornéum qui joue un rôle important dans les propriétés d'élasticité de la peau.

1.1.1. Rôle de l'état structural du corneum sur ses propriétés

1.1.1.1. Structure du stratum corneum (Tableau 32)

La structure et la composition du corneum permettent d'en expliquer les propriétés.

Le stratum corneum est une membrane multicellulaire formée de cellules métaboliquement inactives, polyédriques, aplaties en forme de lamelles et empliées en couches successives atteignant 20 à 40 microns d'épaisseur.

La cohésion entre les cellules, étroitement jointives, est assurée par la transformation des desmosomes des cellules vivantes en épaissements adhérents aux restes membranaires des cellules continues. La cohésion est maximum au niveau des cellules nouvellement formées et disparaît peu à peu pour s'annuler au niveau de la couche desquamante.

1.1.1.2. Le processus de kératinisation.

Le stratum corneum est dynamique dans le sens où les cellules de la surface sont perpétuellement éliminées par la desquamation et remplacées par les cellules de la couche inférieure à une vitesse égale afin de maintenir une épaisseur composée d'un nombre constant de couches cellulaires. Le stratum corneum est le produit final du processus de kératinisation déclenché par les divisions mitotiques de la couche germinative. A la division suivante, une des cellules - filles commence à se différencier et rejoint le courant des cellules qui progressent vers la surface.

ELEMENTS DU STRATUM CORNEUM	COMPOSITION CHIMIQUE	POURCENTAGE
MEMBRANE CELLULAIRE	LIPIDES - PROTEINES	5 %
ELEMENTS INTERCELLULAIRES	LIPIDES - PROTEINES MUCCOPOLYSACCHARIDES	10 %
ELEMENTS INTRACELLULAIRES	LIPIDES PROTEINE FIBREUSE PROTEINE NON-FIBREUSE	85 %

tableau 32 .

composition du stratum corneum

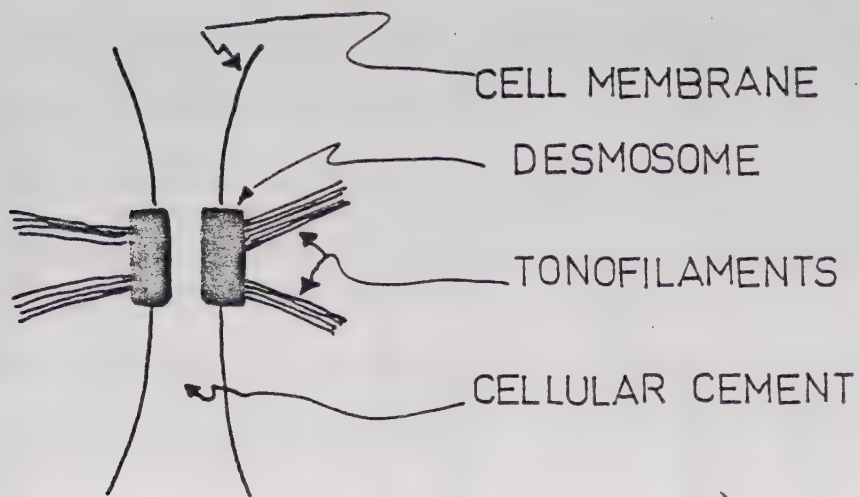


fig 10 : JONCTION TONOFILAMENT-DESMOSOME

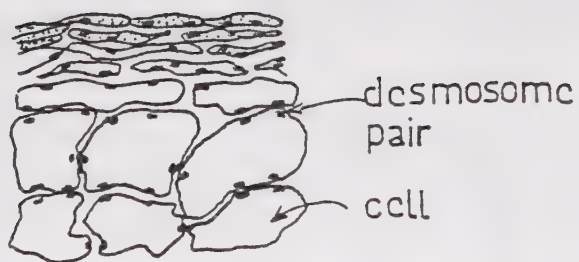


fig 11 : SCHEMA SIMPLIFIE DE
L'EPIDERME

La desquamation se produit alors par fractionnement d'un seul ou de plusieurs agrégats de cellules.

Le mécanisme de ce fractionnement est actuellement bien connu. L'architecture cellulaire est telle que les cellules d'une colonne "interdigitent" avec celles des colonnes voisines pour former une couche continue (Fig. 11)

1.1.1.3. Rôle de la structure du stratum corneum dans les propriétés mécaniques.

En plus des ponts desmosomiques, les mucopolysaccharides de la substance fondamentale qui remplit les espaces inter-cellulaires, facilitent la cohésion entre les cellules. La corrélation entre les liens intercellulaires et ceux des fibres de kératine à l'intérieur des cellules ou tonofilaments, appelée "structure tonofibrillaire tractorielle interne", n'est pas encore élucidée (213).

On a émis l'hypothèse que le lien entre les deux se fait à travers les jonctions desmosomiques.

La morphologie intra et intercellulaire n'est pas assez bien connue pour permettre d'interpréter les propriétés mécaniques du stratum corneum.

On reste dans le domaine des hypothèses.

La raison de cette lacune réside dans le caractère de faible affinité à la coloration du contenu cellulaire et à une part de mystère qui entoure encore les structures fibrillaires qui composent le contenu cellulaire du stratum corneum. Ces cellules sont formées d'un exosquelette membrane épaisse, rigide, de nature protéique, et d'un squelette interne des fibres de Kératine α , représentant 50 % de la masse cellulaire. Les fibres de Kératine tendent à s'agréger en faisceaux et se terminent dans les desmosomes.

Si cette hypothèse est vraie, on est conduit à penser que les connections tonofilament - desmosome agissent comme points de liaisons entre les cellules et maintiennent la membrane intacte (fig. 10 et 11) (220).

Cet ensemble protéique constitue une masse compacte au sein de la cellule, très résistante aux agents d'hydrolyse chimique et enzymatique.

1.1.1.4. Rôle des lipides et de l'eau dans les propriétés du stratum corneum

En plus des protéines, les lipides remplissent les espaces libres entre les cellules du stratum corneum et sont également inclus entre les fibres de Kératine.

Plusieurs recherches ont permis de constater que ces lipides sont communs aux animaux et à l'homme (210). Ces lipides sont formés d'acides gras libres, et estérifiés, de phospholipides, et de cholestérol ; ils proviennent à la fois de cellules cornées et du sébum et sont émulsionnables avec l'eau.

De plus, le stratum corneum fonctionne comme la principale membrane de diffusion moléculaire à travers la peau et sert également de barrière de protection (127) (177).

Par sa teneur en lipides elle laisse diffuser les substances liposolubles, mais par suite de la présence d'agents -émulsifiants elle livre également passage aux composés hydro-solubles.

Dans les deux cas, la vitesse de diffusion est extrêmement faible et le corneum se comporte comme une barrière limitante. En effet, il existe une barrière sous-jacente plus perméable que le stratum corneum, mais sélective, formée par l'épiderme vivant : sa perméabilité est assimilable à celle des autres membranes biologiques (203).

Enfin, à l'intérieur des cellules cornées existent des substances hydrophiles (acides aminés, urée) plus ou moins hygroscopiques qui favorisent l'hydratation de la couche cornée (la teneur en eau de la couche cornée varie de 10 à 70 %).

En conclusion, le stratum corneum étant la dernière étape de l'épidermopoïèse la qualité de cette couche et de ses fonctions est une indication de l'état des couches plus profondes de l'épiderme.

La composition et l'organisation des cellules kératinisées traduisent l'histoire de leur formation.

Il n'est pas déraisonnable de dire que les cellules du stratum corneum constituent une source d'information clinique importante.

Les principales manifestations des désordres dermatologiques altèrent en premier lieu les propriétés physiques du stratum corneum, provoquant écaillage, rugosité, craquellement, inflexibilité et augmentation de la perméabilité (179 - 180 - 211 - 212).

Pour toutes ces raisons, il nous a semblé important d'insister sur la structure et les propriétés de la couche cornée qui joue un rôle non négligeable sur l'activité d'un produit, au niveau de la pénétration de ce dernier et de son devenir dans les zones profondes de la peau.

1.2. Le derme.

Le derme, qui joue un rôle prépondérant dans les propriétés mécaniques de la peau, mérite une attention particulière (223). Tissu de soutien, il est constitué par deux réseaux de protéines fibreuses (collagène, Elastine, Réticuline) envahis par une matière à demi-gélifiée qui constitue la substance fondamentale.

Le derme contient en plus des vaisseaux sanguins et lymphatiques et des nerfs sensoriels.

CONSTITUANTS FIBREUX	%	STRUCTURE	SOLUBILITE	COMPOSITION	FONCTION
COLLAGENE	75	FIBRILLAIRE	NEUTROSOLUBLE PUIS ACIDOSOLUBLE	ACIDES AMINES DONT 39 % D'A.A.P	RESISTANCE AUX DEFORMATION
ELASTINE	4	LAMELLAIRE	INSOLUBLE	ACIDES AMINES DONT 3 % D'A.A.P	ELASTICITE
RETICULINE	0.4	FIBRILLAIRE	NEUTROSOLUBLE	ACIDES AMINES	PRECURSEUR DU COLLAGENE

tableau 33 ; **composition du derme**

Les follicules pileux et les glandes sébacées se situent à la limite du derme qui se compose de deux couches distinctes :

— la couche papillaire.

Adjacente à l'épiderme, elle est constituée de fibres fragiles de collagène, de réticuline et d'élastine. Les fibres de réticuline forment un réseau dense dans la partie supérieure de cette couche où elles se prolongent vers le haut en forme de saillies et de crêtes : d'où le nom de couche papillaire.

Ces papilles contiennent les terminaisons nerveuses et les capillaires.

— la couche réticulaire.

C'est la partie la plus importante de la peau. Elle est formée de réseaux denses de fibres de collagène qui s'entrelacent entre elles et avec les fibres d'élastine et quelques rares fibres de réticuline. Cette couche se subdivise en deux zones :

. une zone supérieure appelée "couche médiane" large, formée de grosses fibres compactes.

. une zone profonde, d'épaisseur variable, constituée de grosses fibres plus lâchement ordonnées.

1.2.1. Les constituants fibreux du derme (Tableau 33)

1.2.1.1. La réticuline.

Les fibres de réticuline, dans la peau de l'adulte, existent en très faible proportion (0,4 % en poids sec délipidé). Dans la couche réticulaire, ces fibres sont nombreuses et siègent principalement autour des vaisseaux sanguins, des glandes sudoripares et dans la gaine conjonctive des follicules pileux.

On pense que leur structure est identique à celle du collagène, en effet la microscopie électronique montre la même périodicité (640 Å) que celle du collagène. En microscopie optique, elles semblent se continuer dans les fibres de collagène que l'on distingue par leurs propriétés différentes à la coloration (149).

1.2.1.2. L'Elastine.

Dans la couche réticulaire du derme l'élastine forme des fibres ramifiées sous forme de rubans de 0.5 à 8 μm de large. Ces fibres s'étendent le long des fibres de collagène avec lesquelles elles s'entrelacent quelquefois. Les fibres d'élastine présentent une structure lamellaire malgré un aspect microscopique fibrillaire. Leur composition chimique indique l'existence du même contenu en glycine et en proline que le collagène (152 - 167 - 173 - 175).

Les autres acides aminés sont différents dans le fait que 3 % des acides aminés de l'élastine sont polaires alors que dans le collagène 39 % des acides aminés sont polaires. Du fait du faible pourcentage d'acides aminés polaires il existe peu de ponts intermoléculaires latéraux (219) mais il existe des liaisons de covalence liant entre elles les chaînes polypeptidiques. La nature des liaisons interchaînes a été établie par la découverte de deux nouveaux acides aminés, la desmosine, l'isodesmosine, et plus récemment d'un troisième acide aminé, la lysinonorleucine (149). Ces acides aminés dérivent tous de la lysine.

Ce modèle amorphe, de structure moléculaire, est confirmé par l'étude aux rayons X de l'élastine pure et par la microscopie électronique. Par biréfringence en lumière polarisée on observe une structure ordonnée des fibres d'élastine uniquement quand celles-ci sont étirées. Il semble que l'élasticité réversible de ces fibres soit due au déploiement des chaînes enchevêtrées en une structure plus ordonnée, quand elles sont étirées, et au retour subséquent à leur configuration initiale quand l'étirement cesse. Un petit nombre de liaisons covalentes subsiste cependant puisque l'élastine conserve des forces mécaniques considérables et demeure insoluble dans les solvants usuels des protéines.

L'élastine qui possède des propriétés d'élasticité et de résistance importantes grâce à une structure semblable à celle des élastomères n'est plus abondante que le collagène que dans un petit nombre de tissus qui doivent posséder une grande élasticité. C'est le cas par exemple, des ligaments de la nuque qui contiennent 7,2 % de collagène et 32 % d'élastine (188 - 192 - 196 - 198 - 219).

1.2.1.3. Le Collagène.

Le collagène est une protéine fibreuse qui représente le constituant essentiel du tissu conjonctif. Le collagène (qui engendre la colle) donne de la gélatine par chauffage. Il occupe une position - clé dans l'architecture moléculaire des animaux supérieurs en contrôlant la distribution dans l'organisme des forces appliquées, internes et externes (149). Existant principalement sous forme de fibres insolubles qui possèdent une grande résistance aux déformations mécaniques importantes, il peut être considéré comme le principal matériau de structure chez les vertébrés.

Le tissu conjonctif et en particulier le collagène, intéressent les biologistes et les biophysiciens. Ils constituent le site de nombreuses lésions comme les sclérodermies, les maladies rhumatismales, la polyarthrite chronique et le lupus érythémateux. Ils sont impliqués dans des phénomènes de métabolisme comme le vieillissement et la cicatrisation (171 - 193).

— Répartition du collagène.

C'est la protéine la plus abondante chez les mammifères. Elle se rencontre principalement dans la peau, le cartilage, les os et les tendons. Le collagène existe dans toutes les classes du règne animal, sauf chez les protozoaires et représente 20 à 25 % des protéines totales. Plus un tissu est riche en fibres de collagène et plus il est résistant. Dans le derme, la direction des axes des fibres est alternativement décalée de 90° dans les couches superposées ce qui donne au tissu souplesse et résistance que ne possède pas le tissu sous-cutané lâche dont la substance fondamentale est prépondérante. Dans les tendons, les fibres de collagène

pratiquement à l'état pur, sont orientées parallèlement les unes par rapport aux autres afin de mieux résister à la traction, alors que dans les parois des vaisseaux sanguins elles sont disposées en spirales de sens opposé pour permettre des dilatations et des rétractions variables avec l'intensité du flux sanguin (219).

– Morphologie des fibres de collagène.

Les éléments structuraux constituant la fibre native dépendent essentiellement du niveau de grossissement utilisé lors de l'observation (fig.12) (121 - 185). La microscopie optique montre des faisceaux de fibres de 20 microns d'épaisseur environ qui se subdivisent ensuite en fibrilles de 2 microns de diamètre. La microscopie électronique permet d'observer les filaments (2000 Å) et les protofibrilles (200 Å). Les fibrilles imprégnées par les métaux lourds présentent des striations transversales caractéristiques, bandes sombres alternant avec des bandes claires, la longueur d'une période étant de 640 Å. Aux forts grossissements, il est possible d'observer à l'intérieur de chaque période 12 à 13 bandes de position et de densité variables. Il a été établi que ces striations sont le reflet de la distribution des acides aminés le long de la chaîne, les régions polaires de la macro molécule apparaissant en sombre et les régions apolaires en clair .

– Structure du collagène.

. Structure primaire : elle est formée par l'enchaînement des acides aminés suivant une séquence définie et relativement stable dominée par le tripeptide.

- Glycine - Proline - Hydroxyproline -

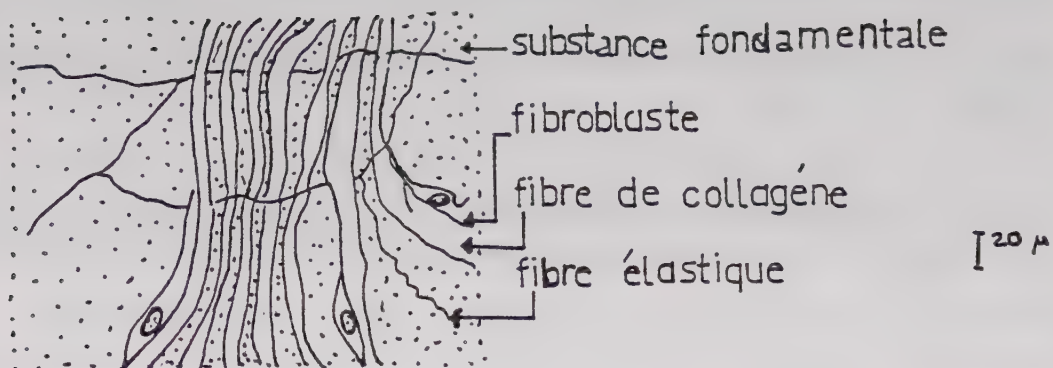
. Structure secondaire : celle-ci a trait à la configuration de la chaîne polypeptidique sous sa forme la plus stable. Dans le cas du collagène il s'agit d'une hélice de pas à gauche que l'on rencontre dans la plupart des protéines fibreuses.

. Structure tertiaire : la molécule de collagène est composée de 3 chaînes polypeptidiques, assemblées et enroulées les unes autour des autres, pour former une triple hélice qui confère à la molécule une allure de bâtonnet rigide, ayant une longueur de 2900 Å, un diamètre de 12 Å et une masse moléculaire de 300.000 environ. Chacune des trois chaînes peptidiques forme sa propre spirale (structure secondaire) et ces hélices s'assemblent donc autour d'un axe commun pour donner la triple hélice.

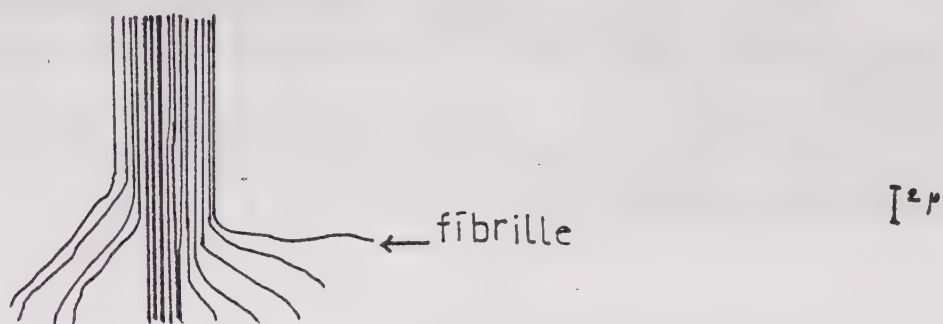
La structure entière est maintenue par des liaisons hydrogènes entre les chaînes peptidiques simples perpendiculairement à l'axe de la molécule. La longueur d'un résidu d'acides aminés le long de la chaîne est de 2.86 Å.

– Nature des liaisons dans la molécule de collagène.

Après la formation des fibrilles, se déroule un lent processus de réticulation qui rend les fibrilles insolubles et renforcées mécaniquement. Il existe deux sortes de liaisons covalentes (215) :



niveau ultramicroscope



niveau microscope électronique

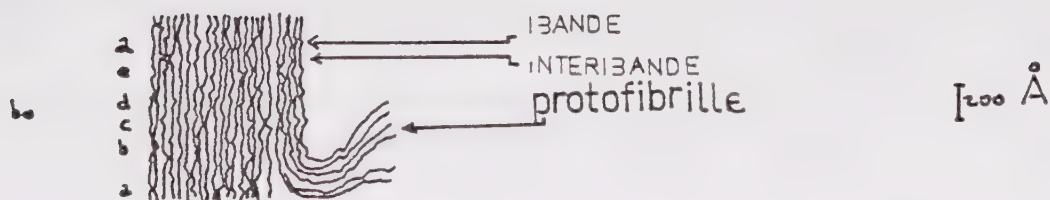
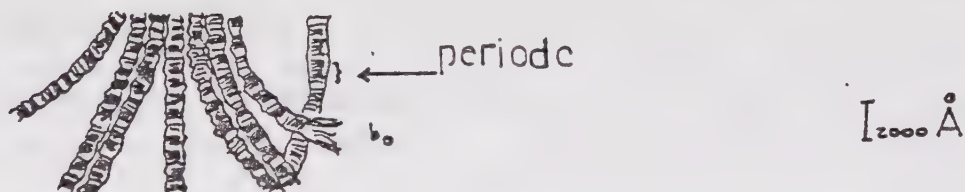


fig 29:

STRUCTURE DE LA FIBRE DE COLLAGÈNE

. liaisons intermoléculaires qui joignent les chaînes peptidiques des différentes molécules. Elles sont responsables de l'insolubilité des fibrilles.

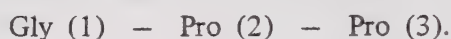
. liaisons intramoléculaires qui se forment entre deux ou trois chaînes alpha à l'intérieur d'une molécule.

Biologiquement, la connaissance de ces liaisons est importante car les propriétés mécaniques de la fibre lui sont directement liées ainsi que son aptitude à la solubilisation.

— Biosynthèse - Maturation du Collagène.

Selon un mécanisme commun à toutes les synthèses protéiques, des peptides contenant environ un tiers de proline sont synthétisés sur des polysomes dans les fibroblastes. (135 - 205).

Sur ces peptides appelés Protocollagène, certaines molécules de lysine et les molécules de proline situées en 3 dans la séquence :



sont hydroxylées respectivement en hydroxylysine et hydroxyproline. Les peptides hydroxylés subissent ensuite une réaction de transglycosylation. Avec cette étape de glycosylation commence la maturation du collagène.

Les chaînes polypeptidiques élémentaires (chaînes α) sont secrétées par le fibroblaste et peuvent alors se polymériser en dimères bêta et en tropocollagène gamma, unité fondamentale du collagène constituée par la tresse à 3 chaînes. Par l'intermédiaire des liaisons esters, des ponts glucose - galactose, des mucopolysaccharides de la substance fondamentale du tissu conjonctif, des liaisons interchaînes se constituent et insolubilisent les polymères de tropocollagène qui forment les fibrilles du collagène.

Les fibres de collagène font l'objet d'un renouvellement constant, régulier, et sous l'action des collagénases tissulaires sont dégradées en polypeptides plus ou moins volumineux qui sont éliminés par voie urinaire.

— Intérêt de l'étude de la maturation du collagène (123).

La maturation du collagène peut être influencée par divers processus physiologiques.

Ainsi, l'évolution du stade infantile vers le stade adulte se traduit normalement par une augmentation de la maturation du collagène dans la peau et le tendon. Cette maturation atteint un palier à l'âge adulte pour augmenter encore (cas le plus fréquent) ou diminuer au cours de la sénescence.

Par ailleurs, au cours de la gestation, le taux de collagène augmente dans le col et le corps utérin, renforçant la résistance mécanique de l'organe. Après la naissance, il se produit une chute de cette résistance mécanique se traduisant par une augmentation de la solubilité du collagène présent.

Dans un autre domaine, on a voulu connaître le degré de maturation du collagène dans certains tissus cicatriciels. On a ainsi noté que le collagène appartenant aux cicatrices cheloïdiennes, par exemple, est comparativement plus mûr que celui des cicatrices normales mais qu'il l'était moins que celui de la peau saine.

— En outre, dans le cas des sclérodermies il se produit au niveau de la peau, une augmentation du nombre de liaisons intermoléculaires qui se traduit par une diminution du taux de collagène acidosoluble (214).

— Enfin, une altération de la maturation du collagène a également été notée dans une maladie du chien semblable au syndrome d'EHLERS DANLOS observée chez l'homme (130).

1.2.2. La substance fondamentale.

La matrice extracellulaire du tissu conjonctif appelée substance fondamentale peut être définie comme "une matière extracellulaire, organisée, solide ou semi-solide, localisée en surface des cellules ou entre les cellules des organismes multicellulaires. Les molécules qui la composent sont impliquées dans la protection, l'organisation, l'assemblage et les transferts intercellulaires d'information dans le tissu en voie de développement ou mature" (172).

Dans cette structure, les associations protéino-glucidiques occupent une place prépondérante.

Les constituants principaux de la substance fondamentale sont les mucopolysaccharides, longues chaînes d'hydrates de carbone principalement formées d'acide hyaluronique et de chondroïtine - sulfates.

L'acide hyaluronique est présent dans toute la substance fondamentale conjonctive.

La configuration et le poids moléculaire de cet acide jouent un rôle fondamental. Ils confèrent à la solution d'acide hyaluronique, même aux faibles concentrations, des propriétés particulières expliquant une viscosité remarquable et une très faible vitesse de sédimentation de ce composé.

L'acide hyaluronique est capable de fixer très lentement l'eau dans les espaces intercellulaires du tissu conjonctif. Il apparaît actuellement, que les protéoglycanes, contenant de l'acide hyaluronique et des chondroïtines sulfates, participent directement à la formation du gel placé autour des fibres et dans les espaces intercellulaires, alors que les protéoglycanes à dermatan - sulfate participent directement à la formation et à l'orientation convenable des fibres de collagène (184).

Les liaisons entre les parties protéiques et polysaccharidiques des mucoprotéines d'une part et entre les mucopolysaccharides et les protéines du derme (collagène - élastine) d'autre part, sont de la plus haute importance en ce qui concerne les propriétés mécaniques et physiologiques du tissu conjonctif, notamment dans le cadre du vieillissement de la peau (114 - 184).

TABLEAU 34 : Composition approximative du derme adulte (114)

Eau	65 %	
Collagène	25 %	
Cellules	5 - 10 %	
Elastine		}
Albumine		
Sang		
Glucosaminoglycanes (G.A.G.)	Acide hyaluronique	}
	Dermaton sulfate	
	Chondroïtine 4 sulfate	
	Chondroïtine 6 sulfate	
	Héparine	
	Kéراتان sulfate	
	Héparan sulfate	
		5 %

2. Notions de Rhéologie.

Pour décrire le comportement de la peau quand elle est soumise à des forces mécaniques, il est indispensable de commencer par décrire les caractéristiques des éléments de rhéologie de base et de voir dans quelles combinaisons ils peuvent être assemblés pour fournir un modèle qui décrive le tissu conjonctif de la peau.

2.1. Définitions (206)

La rhéologie est la science qui s'intéresse aux lois du comportement de la matière. C'est l'étude de la déformation et de l'écoulement de la matière.

Si on applique sur un matériau donné une force extérieure, ce matériau va se déformer. Si on cesse d'exercer cette force, la déformation pourra soit s'annuler, et le matériau revenir à son état initial, soit prendre une valeur intermédiaire.

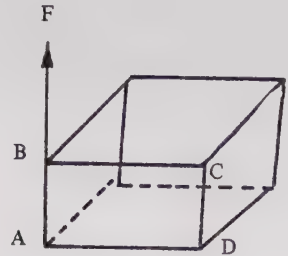
L'étude de la rhéologie fait intervenir trois variables fondamentales :

- . la contrainte σ
- . la déformation ϵ
- . le temps t

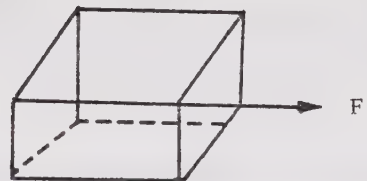
— la contrainte :

Elle peut exister sous deux formes :

. la contrainte de tractage où la force F est appliquée perpendiculairement et uniformément à la section droite de l'échantillon.



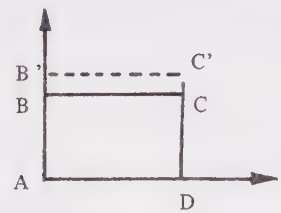
. la contrainte de cisaillement où F est appliquée superficiellement et parallèlement à la section droite.



— la Déformation

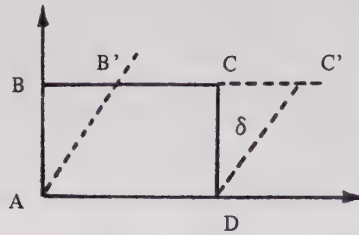
. Pour une contrainte de tractage, lorsque F est appliqué, le point B vient en B' . On peut alors définir la déformation linéaire unitaire :

$$\epsilon = \frac{AB' - AB}{AB} = \frac{L - L_0}{L_0} = \frac{\text{Log } L}{L_0}$$

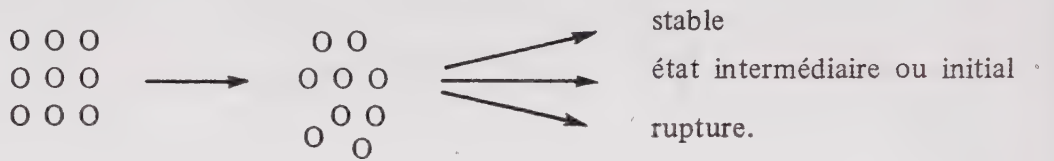


. Pour une contrainte de cisaillement, sous l'action de F le rectangle $ABCD$ se transforme en parallélogramme $AB'C'D$. On peut alors définir ainsi la déformation :

$$\epsilon = \frac{CC'}{CD} = \operatorname{tg} \delta$$



Quand on fait subir à un matériau une déformation cela signifie que les particules du milieu se déplacent relativement les unes aux autres. Ces particules peuvent être des atomes, des ions, des molécules, des cristaux, des agrégats... et les déformations qui en résultent peuvent se faire aussi bien à l'état macroscopique que microscopique.



Si on donne le nouveau système, il peut être :

— en équilibre : la déformation est permanente; le matériau est alors de type visqueux ou plastique.

— en équilibre instable et rechercher un autre équilibre :

. sa position de départ : le matériau est élastique

. une position intermédiaire :
 - matériau visco-élastique
 - matériau plasto-visco-élastique.

— soit se séparer en deux ou plusieurs positions stables :

. cassure

. rupture.

Dans les expériences de tractage et de cisaillement, on a recours à la "vitesse de déformation", celle-ci n'est autre que la dérivée de la déformation par rapport au temps

$$\frac{d\epsilon}{dt}$$

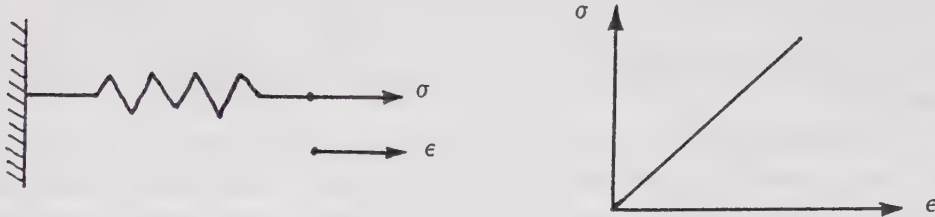
2.2. Modèles analogiques (129 - 136 - 194).

— Corps élastiques :

L'élément élastique idéal, ou solide de HOOKE, peut être déformé indéfiniment avec le même module d'élasticité. Il est représenté par un ressort et son diagramme contrainte déformation est une droite de la forme :

$$\sigma = A \cdot \epsilon$$

A est une constante appelée Module d'Elasticité du matériau.



Quand la contrainte cesse, le ressort retrouve sa longueur initiale. Le facteur temps n'intervient pas et tout se produit simultanément, quand la contrainte est appliquée la déformation correspondante est atteinte simultanément.

Dans le cas du tractage, A est le module d'élasticité ou module d'allongement ou module de Young E

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} = \frac{\frac{F}{S}}{\frac{L - L_0}{L_0}}$$

Dans la pratique ce module est calculé même si le matériau n'exhibe pas un comportement hookéen. Ce module, alors appelé "module apparent" n'est outre que le rapport contrainte / déformation. La plupart des matériaux ont aux faibles déformations un comportement hookéen. La valeur limite de déformation hookéenne est appelée "limite d'élasticité".

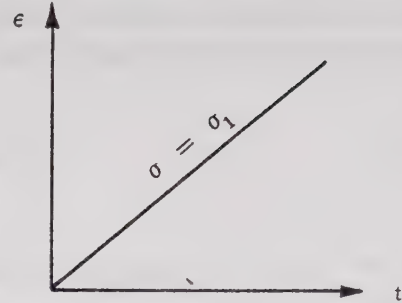
— Corps visqueux :

Le corps visqueux est symbolisé par un amortisseur dans lequel un fluide s'écoule entre un piston et un cylindre. Quand une contrainte constante est appliquée sur le piston, la relation déformation - temps est linéaire pour le corps visqueux idéal ou solide de Newton.

$$\sigma_1 = K \epsilon_1$$

ou

$$\epsilon_1 = \frac{d\epsilon}{dt}$$



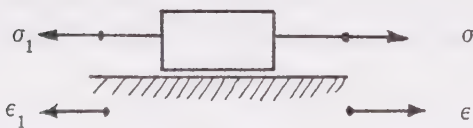
K est la viscosité absolue.

La caractéristique de cet élément est que quand une grande vitesse de déformation est appliquée, une grande contrainte se crée immédiatement, tandis que la déformation est encore très petite et que l'élément semble bloqué au départ. Mathématiquement, quand $\epsilon \rightarrow \infty$ $\sigma \rightarrow \infty$ le diagramme contrainte - déformation dépend de la vitesse de déformation donc du temps. Quand la contrainte cesse le piston stoppe sans revenir à sa position initiale.

Dans la pratique on définit une "viscosité apparente" comme étant le rapport contrainte sur vitesse de déformation.

– Corps plastiques :

La plasticité est symbolisée par un patin ou élément à frottement solide. Aussi longtemps que la contrainte appliquée est inférieure au frottement même du corps rien ne se produit. Quand la contrainte est égale ou supérieure au frottement le corps se déplace dans le sens de la contrainte.

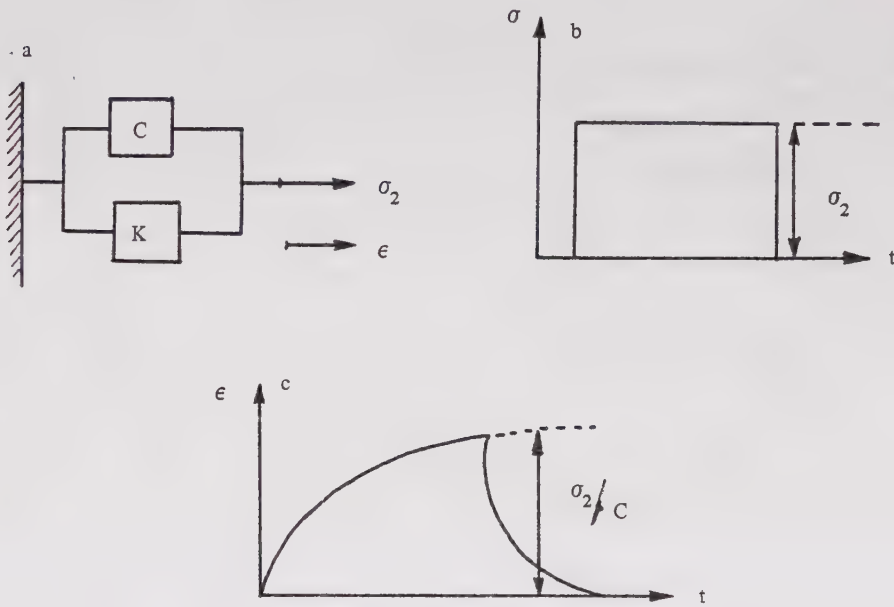


Un corps plastique ne commence donc à se déformer que quand la contrainte atteint une certaine valeur σ_0 appelée "seuil de contrainte", l'équation rhéologique n'est plus linéaire. La déformation que l'on fait subir aux corps plastiques est permanente.

– Solide de Kelvin.

C'est un modèle associant un élément élastique et un élément visqueux, en parallèle. Dans ce modèle une contrainte constante est d'abord reprise par l'amortisseur (corps visqueux), et, peu à peu redistribuée au ressort (corps élastique), tandis que la force d'allongement dans l'amortisseur est épuisée et l'ensemble de la contrainte revient au piston, quand la déformation atteint une certaine valeur σ_2 / C .

Quand la contrainte cesse, le contraire se produit, la contrainte est aussitôt libérée du ressort et ramenée sur l'amortisseur puis peu à peu atteint la valeur zéro.



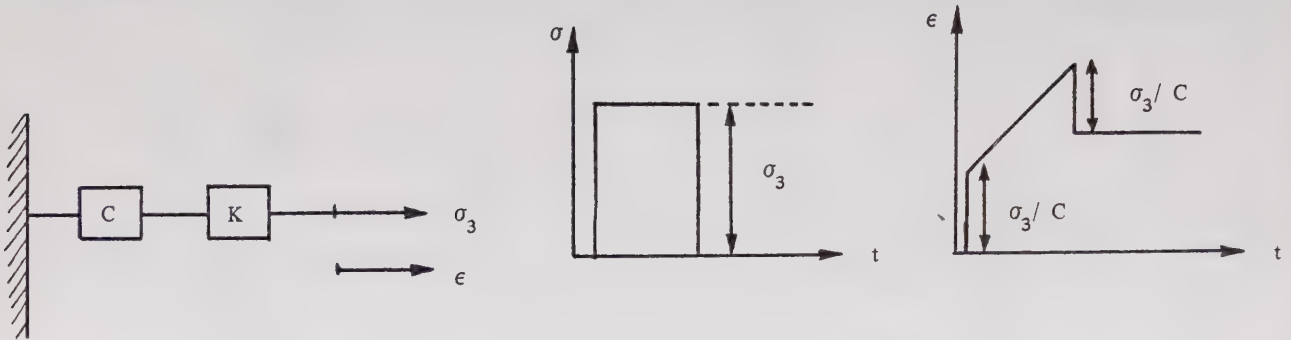
a = solide de Kelvin (c = corps élastique – K : corps visqueux)

b = relation contrainte / temps quand une contrainte constante σ_2 est appliquée puis relâchée

c = relation déformation temps correspondante.

— Solide de Maxwell

Il s'agit d'un couplage en série d'un ressort et d'un amortisseur. Ici il y a une réponse instantanée σ_3/c , dans le piston, à la contrainte appliquée, et, une déformation croissante, graduelle et linéaire, dans l'amortisseur ; quand la contrainte cesse, le ressort revient à sa longueur initiale et l'amortisseur reste dans l'état de déformation où il se trouvait.



— Solide de Bingham

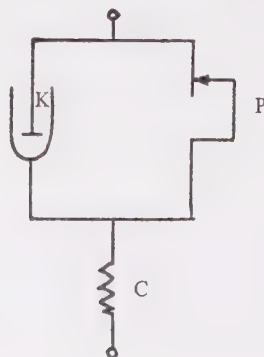
C'est le corps plasto-visco-élastique.

Exemple : la pâte dentifrice.

Ici la déformation fait appel à la fois à la notion de seuil et de temps. Ce corps peut présenter une certaine viscoélasticité aux faibles contraintes, puis au delà d'un certain seuil, présenter en outre un écoulement ou déformation irréversible, fonction ou non de la vitesse de déformation.

C'est le cas général des corps réels. Le solide de Bingham est parfaitement élastique tant que la contrainte est inférieure au seuil. A partir de ce seuil la contrainte comporte deux termes :

- l'un constant, en parallèle, et correspondant au frottement solide.
- l'autre correspondant à un écoulement newtonien.



2.3. Rhéologie des matériaux réels (216)

Il n'existe aucun matériau réel pouvant être indéfiniment étiré comme le ressort. Il se produit une cassure quand le maximum de la résistance mécanique à la traction est dépassé.

La figure suivante représente la courbe contrainte - déformation pour un échantillon de métal. Celle-ci comporte une partie linéaire, O.A, et se continue en se courbant jusqu'au point d'inflexion B l'échantillon restant encore élastique. A et B sont souvent confondus pour les matériaux réels. Au delà du point B, le matériau présente une certaine plasticité.

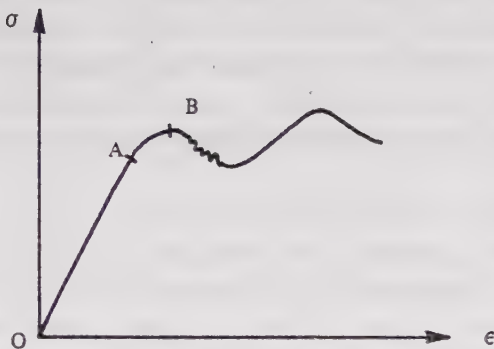


Fig. 13 : courbe contrainte / déformation pour le métal.

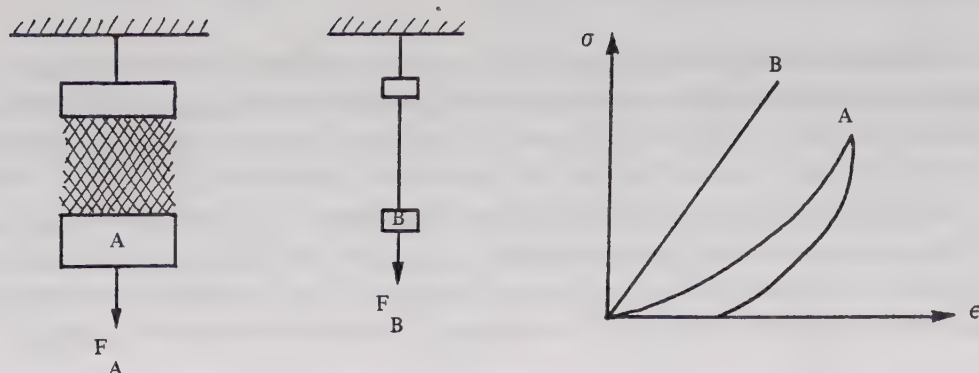
O A est la partie linéaire élastique

B est la limite de la zone élastique.

Dans le but d'obtenir des données précises sur le comportement d'un matériau, il faut tenir compte de l'influence de la forme géométrique de l'échantillon titré. Ce paramètre est éliminé quand la contrainte est exprimée par unité de surface et la déformation par unité de longueur initiale. La déformation qui se produit dans les expériences de traction est appelée "élongation".

Les propriétés mécaniques d'un matériau isotropique sont facilement descriptibles. Si le matériau possède une structure fibreuse, le comportement de l'échantillon de ce matériau dépend de la façon dont les fibres sont orientées et de la relation entre la direction de ces fibres et celle de la contrainte appliquée.

Un tel matériau est anisotropique. C'est le cas de la peau, qui en plus de sa structure fibreuse, est constituée d'un réseau tridimensionnel de faisceaux de fibres. L'arrangement géométrique de ce réseau est fondamental. Les expériences de traction réalisées à la fois sur un fil de nylon et sur un tissu de nylon illustrent bien cette notion (216). La courbe contrainte - déformation du tissu est non - linéaire et forme une hystérèse. La même substance, le nylon, sous forme de fil donne une courbe parfaitement linéaire (fig. suivante).

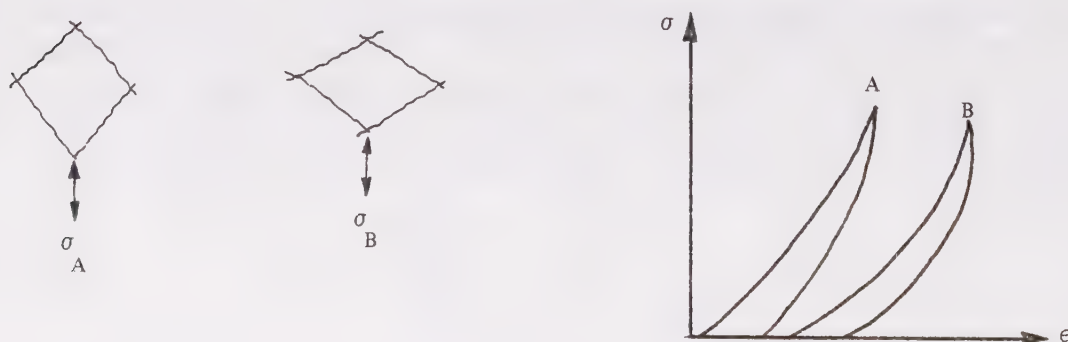


Cependant dans la peau, il existe des directions préférentielles de fibres, presque parallèles à la surface de la peau, observées d'abord par DUPUYTREN (1834) et étudiées par LANGER (1861). On les appelle les lignes de LANGER. Ces lignes sont produites en poinçonnant la peau avec un instrument conique à pointe aiguë, qui, au lieu de laisser une empreinte circulaire sur la peau, laisse une fente étroite dans la direction prédominante des fibres.

Ce phénomène fut étudié par plusieurs auteurs (199.-200) qui ont vérifié l'existence d'une direction principale des fibres et ont postulé une structure théorique du réseau des fibres en "fenêtre losangique", d'après laquelle le schéma de type A (tissu de nylon) aurait sa ligne principale verticalement et serait moins extensible dans cette direction que le schéma de type B où "la fenêtre losangique" peut être déformée avant que les fibres elles-mêmes ne soient atteintes par la force de contrainte. D'autres auteurs étudièrent ce problème en confirmant récemment que la direction préférentielle des fibres coïncide avec les lignes de Langer (141 - 165).

Des mesures in vivo (133) recherchant une "contrainte limite" ont montré que souvent le maximum d'extensibilité se trouve à angle droit avec les lignes de Langer. Ceci confirme le concept de l'orientation préférentielle des faisceaux de fibres de collagène. La peau est donc moins extensible et possède une plus grande résistance à la traction dans la direction principale de fibres (141 - 199)

La figure suivante illustre bien cette donnée (216).



La peau est donc un matériau hétérogène, anisotrope. Pendant les mouvements normaux du corps la peau présente un comportement essentiellement élastique. Elle se déforme instantanément quand elle est sollicitée et retrouve sa forme initiale dès que la sollicitation cesse. In vitro, la peau n'est élastique qu'aux faibles déformations. Quand la contrainte augmente il se produit un état permanent de déformation, en particulier quand le temps de contrainte est important. Il s'agit là d'un comportement plastique (121 - 124 - 139). En outre les tissus capables à la fois de déformation et d'écoulement sont appelés visco-élastiques ; ils exhibent à la fois glissement et relaxation (184).

De plus, le comportement mécanique de la peau dépend non seulement du temps mais également des conditions de l'environnement. Il varie selon les différentes régions du corps, selon les individus, l'âge, le sexe.

En résumé, la peau possède des propriétés caractéristiques :

- une relation contrainte / déformation non linéaire.
- des propriétés élastiques, plastiques, visco-élastiques.
- des variations individuelles
- une forte dépendance de la direction de la contrainte appliquée lors des essais de traction.

2.4. Propriétés mécaniques de la peau.

La relation contrainte - déformation pour la peau étudiée en tension mini-axiale est non linéaire et peut être caractérisée par quatre phases d'extension (figure 14) (158 - 216)

— Phase 1 : cette phase se caractérise par de grandes déformations produites sous de faibles contraintes. La déformation est de l'ordre de 50 à 60 % pour une peau jeune.

Cette déformation diminue jusqu'à 25 % pour la peau d'un sujet âgé.

— Phase 2 : elle correspond à l'épaule de la courbe. Elle indique une raideur augmentant avec l'extension (201). Durant les mouvements normaux du corps, la peau est soumise à des déformations correspondant à cette partie de la courbe.

— Phase 3 : le graphe est ici linéaire avec une pente indiquant une grande raideur. La pente est identique à celle obtenue avec le collagène pur (185 - 186 - 187).

— Phase 4 : c'est la phase de rupture de la peau (197).

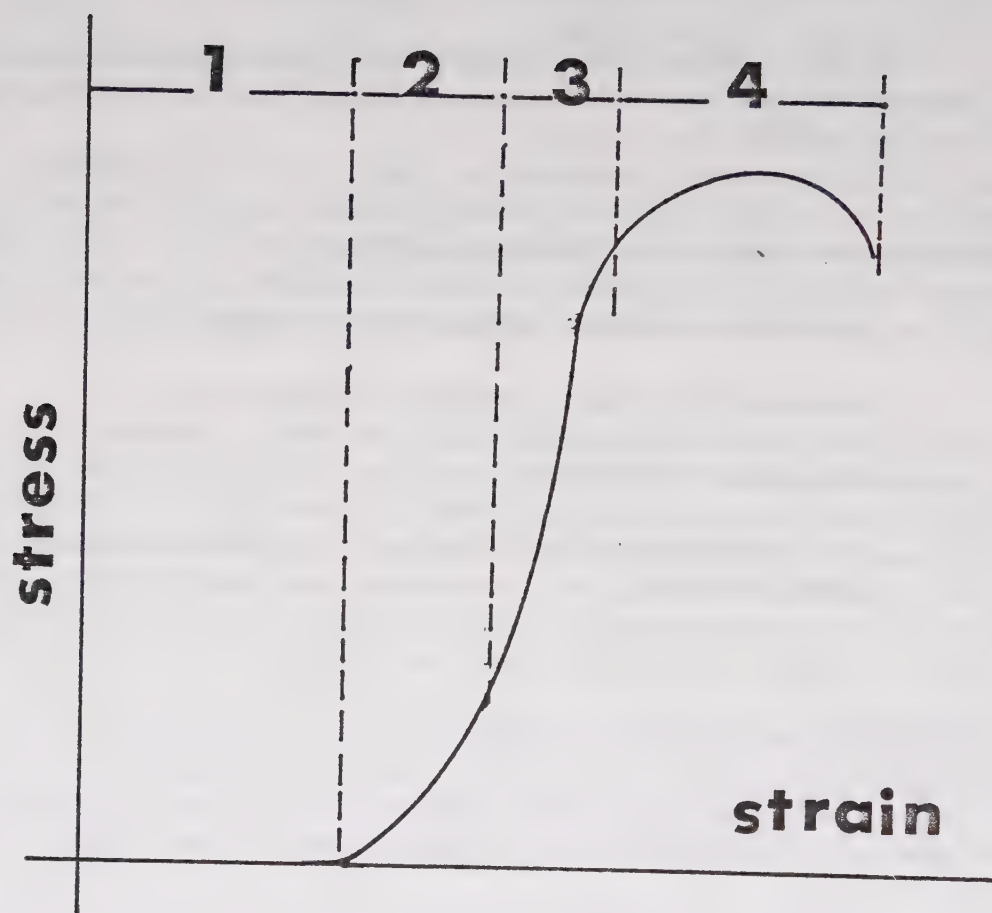


fig 14 :

**courbe contrainte
— déformation**

— l'extension dans la direction de la contrainte appliquée ou "déformation active" est accompagnée d'une importante contraction de l'échantillon ou "déformation passive".

La déformation passive, durant les deux premières phases de l'extension, est similaire à la déformation active non linéaire du graphe. La limite de la contraction est cependant atteinte dès le début de la phase 3 et l'extension suivante de la peau se produit sans aucune contraction supplémentaire.

— un matériau élastique idéal, qui se déforme immédiatement à l'application d'une contrainte, maintient une relation contrainte - déformation constante pendant qu'une contrainte ou une déformation est appliquée, et retrouve ses dimensions initiales dès que la contrainte cesse. Si le matériau retrouve en partie seulement ses dimensions initiales, on ne les retrouve pas du tout quand la contrainte cesse, on parle alors de déformation plastique.

— durant son activité normale, la peau se comporte d'une manière élastique. Elle se déforme pour permettre au corps de se mouvoir et retrouve ses conditions initiales au repos.

In vitro, la peau n'est élastique qu'aux faibles contraintes. Quand on atteint la phase 3 de la courbe et que la contrainte cesse, on ne revient pas au point zéro de l'axe des déformations. Il subsiste une **déformation rémanente** ou **déformation plastique**. De plus, les tissus capables à la fois de déformation et d'écoulement sont appelés visco-élastiques, ils présentent glissement et relaxation.

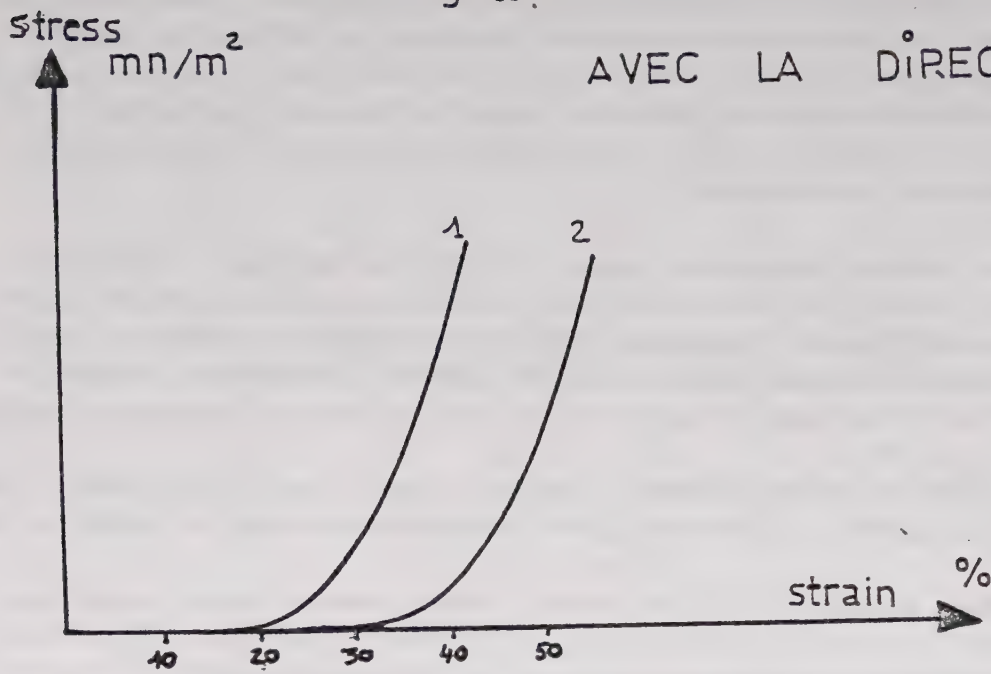
— Tandis qu'à des niveaux bas de contrainte la peau n'exhibe pas de propriétés dépendant du temps, à mesure que la contrainte augmente les effets de relaxation deviennent plus nets (figure 15).

Toutes les études réalisées sur la nature viscoélastique de la peau montrent que ni la théorie de viscoélasticité linéaire ni celle de viscoélasticité non linéaire ne sont applicables. (216).

La peau, à l'état normal, est en état de tension appelé "tension au repos". Cette tension se manifeste, par exemple, durant les opérations chirurgicales. A l'incision, les bords d'une entaille se rétractent et, par ailleurs, un échantillon de peau prélevé voit ses dimensions diminuer. Le degré de rétrécissement d'un échantillon de peau et la force nécessaire pour refermer une plaie sont autant d'indications de la variation de tension au repos de la peau dans différentes régions du corps (208). La tension au repos a une valeur moyenne de 2 g/mm. Elle varie non seulement selon les différentes régions du corps mais aussi selon les différentes directions.

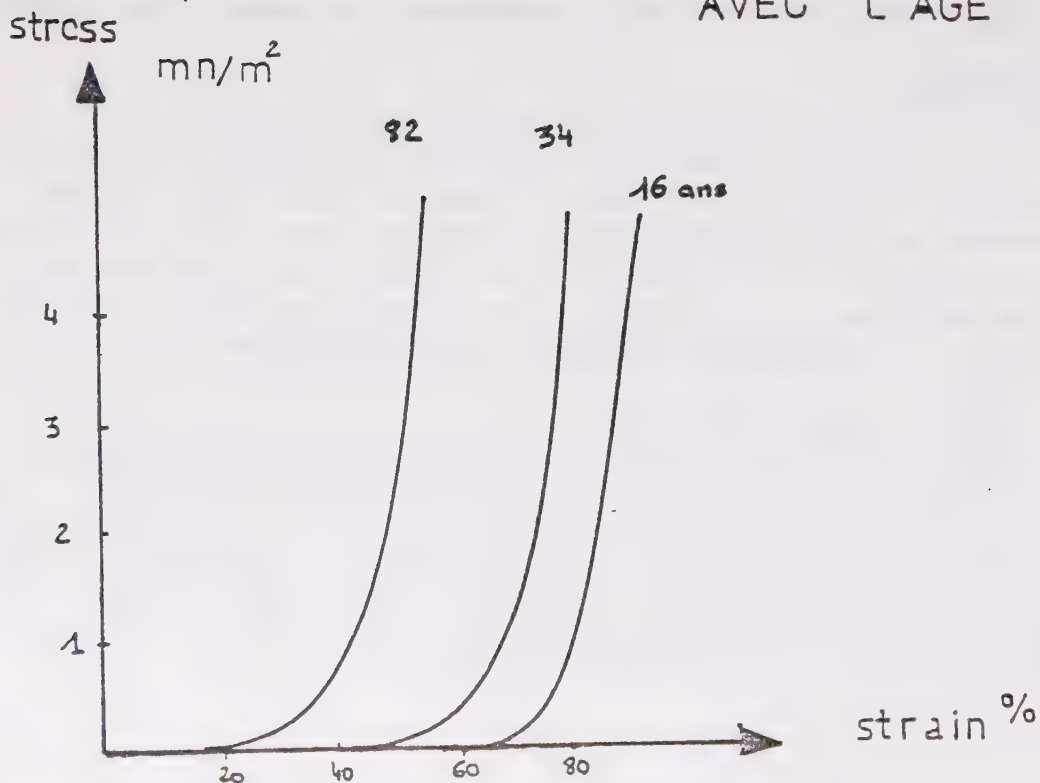
— Le caractère le plus important de la peau est son **extensibilité anisotropique**. Cette extensibilité varie, comme nous l'avons vu, selon les différentes directions de la contrainte appliquée. Ceci a été confirmé par des études in vivo et in vitro (199). Par exemple, dans la région abdominale, la peau est plus extensible dans le sens vertical que dans le sens transversal. Cette plus grande extensibilité se traduit sur la courbe (figure 16) par une phase 1 beaucoup plus allongée, la pente de la partie linéaire étant identique selon le sens parallèle ou perpendiculaire.

fig 15: VARIATION DE L'EXTENSIBILITE
AVEC LA DIRECTION



(1) Peau Parallele et (2) Perpendiculaire a la mediane cranio-caudale

fig 16: VARIATION DE L'EXTENSIBILITE
AVEC L'AGE



Enfin, le comportement mécanique de la peau peut être altéré par des changements physiologiques tels que l'âge, les conditions pathologiques. L'effet principal de l'âge se traduit par une diminution progressive de l'extensibilité. Sur la courbe, on remarque une diminution de la phase 1 d'extension, la pente de la partie linéaire restant constante (figure 16). Si l'extensibilité diminue avec l'âge il est bien évident que la résistance à l'extension, elle, augmente (131 - 157).

— De plus, les propriétés mécaniques de la peau peuvent être affectées par la présence de niveaux anormaux des fluides du corps. Il a été prouvé, par exemple, que dans les cas d'oedèmes, ou après ingestion importante de liquide, la peau de l'individu est lente à réagir à une contrainte appliquée (124). D'autre part chez les enfants en état de perte hydrique, la peau a tendance à moins se rétracter.

2.4.1. Rôle des composants de la peau dans les propriétés mécaniques.

Pour bien comprendre les propriétés biomécaniques de la peau il est nécessaire d'établir la relation entre la structure et son comportement rhéologique. Connaissant cette relation pour la peau normale, on pourra aisément interpréter les désordres pathologiques cutanés par l'altération des fonctions mécaniques. Il faut donc savoir comment les composants structuraux réagissent entre eux mécaniquement pour donner les propriétés caractéristiques de la peau.

Les propriétés mécaniques de la peau sont essentiellement celles du derme (200 - 201). Or une part importante du derme est liquide ou semi liquide (substance fondamentale - sang). Il est invraisemblable que ces composants contribuent aux propriétés d'extensibilité de la peau.

.. La substance fondamentale est un gel visqueux. L'acide hyaluronique possède un poids moléculaire important et des propriétés thixotropes qu'il confère à la substance fondamentale (172).

.. Les fibres de collagène forment la substance de base de la peau. Mécaniquement le collagène se caractérise par une grande résistance à la déformation et par une faible extensibilité.

La plupart des études mécaniques du collagène furent réalisées sur le tendon dans lequel les faisceaux de fibres de collagène sont parallèles. Durant son activité normale, l'allongement du tendon est inférieure à 3 %. Le point de rupture se situe entre 5 à 6 % d'allongement. Les études sur la résistance à la traction font état d'un grand éventail des valeurs, probablement en raison des variations des conditions expérimentales. Cependant les valeurs les plus sûres varient de 15 à 35 kg/mm² (200).

.. Les propriétés mécaniques de l'élastine se caractérisent par une grande extensibilité. Des essais mécaniques réalisés sur des fibres isolées d'élastine provenant de ligaments bovins montrent que les déformations réversibles de plus de 100 % sont réalisables (115).

Les propriétés mécaniques de la réticuline n'ont pas été étudiées mais sont probablement similaires à celles du collagène puisque leur structure moléculaire et leur morphologie sont similaires (186).

2.4.1.1. Relations entre propriétés mécaniques et structure de la peau.

Le rôle des différents composants de la peau dans les propriétés mécaniques de celles-ci a été établi par des études histologiques d'échantillons de peau soumis à divers traitements mécaniques (112 - 121 - 131 - 174 - 197 - 200).

Grâce à la microscopie électronique et optique, on a pu expliquer la non linéarité de la relation contrainte - déformation. Pour ce faire, des études histologiques ont été réalisées sur des échantillons de peau soumis à différentes contraintes correspondant à des allongements bien précis de la courbe. Globalement la traction de la peau entraîne une réorientation des fibres dans le sens de la contrainte appliquée, un réarrangement en faisceaux parallèles, compacts avant le point de rupture. Quelles sont les étapes successives du processus de réorganisation structurale correspondant aux quatre phases de la courbe contrainte- déformation ?

- Durant la phase 1, les fibres se réorientent et tendent à se réarranger dans la direction de la force appliquée. Ce réarrangement à partir d'un réseau de fibres multidirectionnelles en une structure plus ordonnée se traduit par des allongements très grands dans le sens de la contrainte appliquée (déformation active) et par une contraction importante dans la largeur de l'échantillon (déformation passive). La force nécessaire pour produire cette réorientation est faible car la plupart des fibres de collagène elles-mêmes ne sont pas étirées.

- Le raidissement de la peau durant la phase 2 est attribué à l'alignement progressif des fibres qui deviennent plus résistantes à l'extension sur toute leur longueur. A partir du moment où les fibres se réalignent à partir de toutes les directions et étant donné qu'elles ont des degrés différents de plissage, certaines sont totalement tendues avant les autres ; par conséquent, il se produit une résistance progressive à l'extension due aux propriétés d'inextensibilité du collagène.

Au même moment, la déformation passive tend vers une valeur constante correspondant à l'état dans lequel se trouve les fibres, c'est à dire, droites et parallèles. Là, une nouvelle extension de la peau dépend de l'extensibilité intrinsèque des fibres elles-mêmes. La pente de la partie linéaire de la courbe est identique à celle du collagène pur (201). Ceci conduit à dire que les propriétés mécaniques du collagène attribuent à la peau sa caractéristique de résistance à la traction. Les échantillons de peau soumis à la traction ne sont élastiques que pour des faibles contraintes. Leur habilité à retrouver leurs dimensions initiales, quand cesse la contrainte, est attribuée à l'élastine (116 - 195). Ceci est basé sur les propriétés d'extensibilité et l'élasticité des fibres d'élastine et sur le rôle similaire que joue l'élastine dans d'autres tissus comme les artères. De plus, quand l'élastine est digérée par l'élastase, les propriétés élastiques de la peau sont considérablement amoindries (149). Quand les échantillons de peau sont déformés jusqu'à la phase 2 de la courbe et même au-delà, il n'y a qu'un retour partiel des échantillons à leur état initial, quand cesse la contrainte. Ce comportement plastique est dû au retour incomplet des fibres à leur arrangement initial. Ces déformations entraînent un déplacement des fluides dans le tissu qui est comprimé. In vivo, cette déformation plastique se produit et subsiste à la fin de l'application de la contrainte mais disparaît quelques instants après.

Ce phénomène a trouvé une explication dans le fait que la substance fondamentale est déplacée dans les tissus voisins et qu'à la relaxation sous l'effet de la pression sanguine il y a un retour à l'état initial (200). La réversibilité des déformations se produisant in vivo est due à la combinaison des effets d'élasticité et de "pressurisation" de la substance fondamentale. De plus, les propriétés time - dépendant de la peau ont été reliées à la résistance visqueuse au

mouvement des fibres que crée la substance fondamentale. Par exemple, la relaxation qui suit l'imposition soudaine d'une déformation est due au temps que prennent en fibres à assurer leur position d'équilibre pendant que la substance fondamentale est comprimée, enserrée, dans les espaces interfibrillaires. Aux faibles contraintes, la peau possède apparemment un comportement indépendant du temps. A ces niveaux-là, les espaces entre les fibres sont suffisamment larges pour permettre un transport aisé de la substance fondamentale. A des niveaux supérieurs de contrainte, les fibres sont étroitement entassées entre elles, dans leur position d'équilibre ; le déplacement de volumes plus grands de substance dans des espaces de plus en plus étroits entraîne des effets visqueux de plus en plus prononcés.

Dans les conditions normales, la peau du corps est en état de tension dont l'importance varie avec l'âge, l'endroit du corps, et de la direction dans un site donné. Peu de travaux ont tenté de définir l'origine de cette tension. Il est en général, admis que le réseau d'élastine est en partie responsable de l'existence de cette tension.

La diminution de cette tension avec l'âge est accompagnée d'un changement dégénératif de l'élastine (110 - 134 - 144 - 156 - 173 - 175). Grâce au microscope électronique et aux analyses quantitatives, on a discerné que le réseau des fibres est un système multidirectionnel, irrégulier, dans lequel il existe une orientation préférentielle des fibres dans le sens d'une tension maximum (199). Dans une peau jeune, les fibres sont spiralées, tortueuses et lâchement arrangées. Chez un adulte, elles deviennent plus épaisses et certaines sont connectées entre elles. La ramification et l'épaississement se poursuit dans le temps formant des faisceaux fibreux entrelacés en un réseau très dense. L'absence de connections dans une peau jeune permet une plus grande mobilité des fibres et une extension significative. Dans une peau âgée, le réseau est moins déformable à cause des interconvections entre les fibres qui deviennent moins spiralées, plus linéaires. L'augmentation de la résistance à l'allongement, de la rigidité est probablement due au changement de configuration du réseau et aux changements moléculaires du collagène. Des études biochimiques ont révélé que le contenu en collagène et en élastine de la peau ne varie pas d'une façon significative avec l'âge (189 - 193 - 207). Le changement qui se produit avec l'âge est dû en partie à la stabilisation du collagène (171 - 175 - 193 - 205).

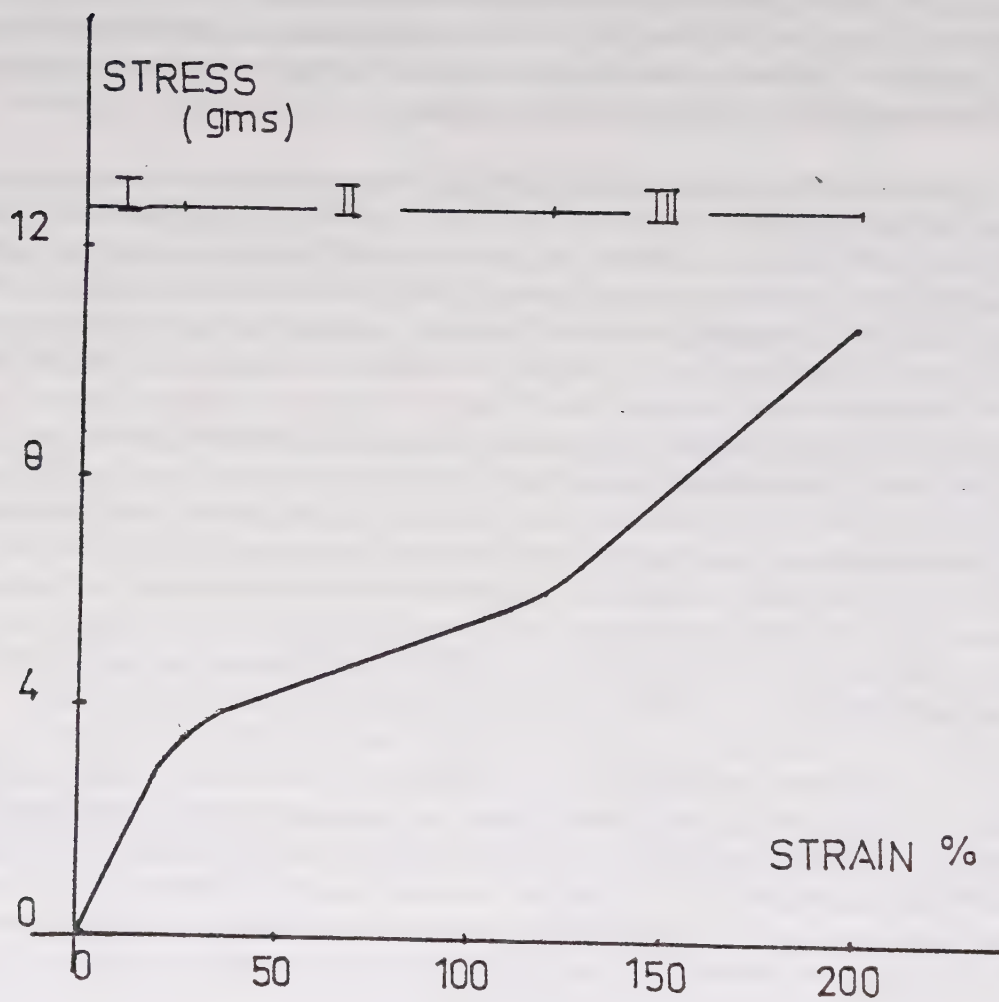
La diminution de l'élasticité et de la tension au repos est probablement due, elle, aux modifications que subit le réseau de l'élastine et aux modifications de configuration moléculaire. L'extensibilité de l'élastine dans l'aorte diminue avec l'âge par le fait de la formation de liaisons entre les chaînes peptidiques (110). L'analyse des acides aminés de l'élastine dans une peau âgée indique des changements notables dans la proportion de certains constituants : il y a augmentation de desmosine que l'on suppose être l'agent initiateur de la formation de liaisons (215).

La dégénérescence du réseau des fibres d'élastine comporte une fragmentation irrégulière et une agrégation des fibres en masses irrégulières (195). Ces changements dans la composition chimique de l'élastine sont certainement responsable de la variation des propriétés élastiques de la peau avec l'âge.

2.4.1.2. Propriétés mécaniques de l'épiderme.

Les propriétés mécaniques de la peau entière sont supérieures à celles du derme seul. Malgré sa finesse, l'épiderme possède donc une force de tension appréciable quoique négligeable par rapport à celle de la peau entière (108). Cependant, très peu d'auteurs se sont penchés

fig 17 : Courbe contrainte-déformation de
l' épiderme



sur cette question qui est pourtant d'une importance fondamentale quand on évoque le rôle que joue l'épiderme dans les aspects cosmétiques et dans les manifestations pathologiques de la peau.

Le comportement rhéologique de l'épiderme est différent de celui du derme.

Il apparaît trois phases d'extension dans la courbe contrainte - déformation :

- Phase 1 : c'est une phase hookéenne qui donne une élongation de 0 à 10 %
- Phase 2 : elle commence à 20 % et se termine vers 125 % d'élongation
- Phase 3 : elle est presque linéaire ;
la rupture se produit vers 200 % d'extension (figure 17) (200).

Deux facteurs influencent le comportement mécanique de l'épiderme. Ce sont, d'une part, les lipides, d'autre part la teneur en eau. Les lipides sont considérés comme essentiels pour maintenir une membrane lubrifiée. Ils donnent à l'épiderme flexibilité et extensibilité. Si la teneur en lipides de l'épiderme peut être connue, il est extrêmement difficile d'en connaître le taux d'humidité (127 - 151 - 200 - 202 - 210). Dans la courbe contrainte - déformation de l'épiderme, la phase 2 n'est visible qu'en présence d'une humidité relative supérieure à 70 % ; la phase 3 à une humidité relative de 100 % environ. Le stratum corneum n'exhibe un comportement caoutchouteux que dans des conditions de haute humidité (193 - 204 - 221).

L'élongation augmente considérablement quand l'humidité relative augmente ce qui indique une plastification importante par les molécules d'eau. La force à la rupture diminue à cause de l'effet visqueux induit par les molécules d'eau plastifiantes, ce qui a pour effet d'augmenter l'écoulement (ce qui se traduit par une plus grande élongation avant la rupture).

Le module d'élasticité dépend de deux facteurs : (200)

- . l'humidité relative
- . la vitesse de traction.

La dépendance de la vitesse de traction est surprenante en regard du fait que le stratum cornéum est un polymère partiellement plastifié et devrait exhiber un caractère visco-élastique.

Quel est l'élément responsable des propriétés mécaniques de l'épiderme ?

A l'heure actuelle, la seule certitude réside dans le fait que les propriétés mécaniques pures de l'épiderme incombent à la couche cornée.

Le système membrane cellulaire - desmosomes est la seule phase continue imprégnant toute la structure cellulaire du stratum corneum, et, en tant que telle, est responsable de toute activité mécanique (220).

De plus, des films isolés de kératine gonflent dans l'eau et ne déploient aucune activité élastique. Ceci prouve indirectement que la kératine n'est pas la substance rhéologiquement active du stratum corneum. Les protéines de la membrane cellulaire seraient, elles, responsables des propriétés mécaniques du stratum corneum.

Cette hypothèse s'appuie sur le fait que la protéine de la membrane cellulaire contient plus de cystine que les filaments de kératine conduisant à des interponts disulfures plus permanents et plus résistants dans la membrane (142).

3. Les méthodes :

Il existe de nombreuses approches au problème de l'étude des propriétés mécaniques de la peau.

Il faut donc définir le travail en fonction du type de contrainte appliquée :

- contrainte uniaxiale ou multiaxiale
- charge en compression ou en torsion.

3.1. Méthodes à contrainte uniaxiale :

– Des études reproductibles ont été effectuées in vitro à l'aide d'un extensomètre sur des fragments de peau excisée (158-200). On enregistre ainsi une courbe contrainte-déformation, à plusieurs phases, caractéristique :

. la phase 1 ou phase d'extension de la peau selon la formule :

$$E : c \times \log K$$

ou E : extension (ou déformation)

K : force

c : constante.

. la phase correspondant à la tension des fibrilles de collagène parallèles selon la formule :

$$E : c + KL^b$$

où c, K, b sont des constantes.

– Dans d'autres travaux, ce rapport a été présenté par des courbes force-extension. On a alors pour la force (213) :

$$F : \frac{\text{Poids (force)}}{\text{Section}}$$

et pour l'extension :

$$E : \frac{\text{Elongation}}{\text{longueur initiale de l'échantillon}}$$

– Dans un essai à tension uniaxiale réalisé in vitro, des échantillons de peau excisée sont soumis, soit à des contraintes, soit à des déformations, et la déformation ou la contrainte qui se développe est enregistrée. Dans les premières investigations, de nombreux chercheurs appliquaient des contraintes simplement en suspendant des poids sur des échantillons de peau. D'autres auteurs utilisèrent des appareils testant uniquement les tensions (223). Ces essais s'effectuaient sans contrôle de la température et de l'humidité relative. Aucun de ces essais ne tenait compte du fluage de la peau sous son propre poids, par conséquent, l'allongement enregistré par ces méthodes ne pouvait être précisé. Enfin, les vitesses de contraintes et de déformations n'étaient pas constantes.

— Plus tard, une méthode plus précise fut mise au point, méthode qui standardisait l'endroit du prélèvement de l'échantillon, la forme de cet échantillon, les vitesses de déformation appliquées et les conditions expérimentales (199). Cependant, une tension initiale de 5 g était imposée au début de l'essai. L'allongement enregistré était donc inférieur à l'allongement réel de la peau. Les travaux les plus importants améliorant les tests *in vitro* en tension uniaxiale sont dus à DALY. Des échantillons de peau abdominale furent préparés et testés par une méthode empêchant le dessèchement de la peau avant l'essai, contrôlés pour la température, l'humidité relative du milieu ambiant, établissant le zéro véritable de l'axe des allongements et appliquant une vitesse de contrainte constante.

Les tests uniaxiaux *in vivo* tendent à remplacer les méthodes subjectives utilisées habituellement en clinique. L'appareil utilisé dans ces tests, pour appliquer une charge uniaxiale, était attaché à la peau soit au moyen d'un adhésif, soit par des sutures dans le cas de sujets anesthésiés (144).

L'appareil inventé par EVANS fut utilisé plus tard pour étudier l'extensibilité de la peau *in vivo* (141) : une contrainte uniaxiale est appliquée sur la peau à vitesse constante et la résistance à la traction est enregistrée. L'instrument est attaché à la peau par le moyen de languettes adhésives et de fils qui passent autour de bras mobiles.

— Enfin, dans les méthodes uniaxiales *in vivo*, on peut citer la méthode de JOACHIM (216) qui consiste à déplacer latéralement la peau jusqu'à ce que des plis se forment. Cette technique permet surtout d'évaluer l'état de tension normal de la peau.

Cependant, ces tests *in vivo* n'ont pas permis de déterminer les propriétés mécaniques absolues de la peau, à cause de la tension au repos, d'amplitude variable et inconnue, qui existe dans la peau avant l'essai. Ces essais ont une valeur clinique certaine car les tests mécaniques imposent des déformations similaires à celles qui se produisent pendant les mouvements normaux du corps et dans les techniques chirurgicales où il est nécessaire de connaître la direction de l'extensibilité maximum de la peau.

3.2. Méthodes à contrainte multiaxiale :

Des tests ont été réalisés *in vivo* et *in vitro*. Le mode de déformation de la peau est le même dans les deux cas.

— Une des méthodes est la "technique du tube" mise au point par KULBS (213) qui permet de déterminer le retour d'une pression en forme de cercle.

Cette méthode consiste à appliquer un tube à la surface de la peau et à créer une pression différentielle à l'intérieur du tube.

Une variante de cette méthode est la technique de KNAUS (124) où l'on mesure le "dôme" formé par la peau dans une cloche de succion.

Toutes ces méthodes admettent une déformation circulaire, ce qui est erroné compte tenu du comportement anisotrope de la peau. De plus, les valeurs de déformations rapportées dans ces études sont sujettes à caution (223). Toutefois, ce genre d'expériences, illustre bien le type de variations des propriétés mécaniques en fonction de l'âge et des conditions pathologiques.

3.3. Méthodes par compression :

Toutes ces méthodes ne sont malheureusement pas très précises en raison de la transcription optique ou mécanique des valeurs mesurées.

— L'appareil mis au point par TRONNIER permet d'améliorer les résultats enregistrés (213). La technique consiste à appuyer mécaniquement sur la peau un anneau (profondeur déterminée) et d'établir la contre-pression en fonction de la profondeur de l'empreinte.

Simultanément, on peut mesurer en "courbure relative" la différence de hauteur entre la peau soumise à la pression de l'anneau et la peau non comprimée au centre de l'anneau à l'aide d'un palpeur de déplacement.

— Il existe également un procédé de mesure par succion appliquée à la peau à travers un petit tube. On mesure ensuite la profondeur de l'empreinte qui se forme grâce à un palpeur de déplacement. Avec ce système, l'adhérence de la peau au tissu musculaire ou osseux sous-jacent joue un très grand rôle (216).

— Les méthodes élastométriques furent développées par SHADE (1923) pour déterminer les pro-oedèmes des patients avec plus de précision que par examen clinique. Dans ces méthodes on mesure la profondeur de l'empreinte initiale laissée sur la peau par un poids de 50 g et ensuite, la profondeur finale de l'empreinte. On retire le poids et on détermine le "retour élastique" immédiat et le retour total plus tardif. Cette technique tient compte de la viscoélasticité de la peau et également des éléments de plasticité surtout dans les conditions pathologiques (124).

— RUPPERT (1937) mit au point un appareil sur le même principe que celui de SHADE (223). Plus tard KIERK & KNORNING (1949), KIERK & CHIEFFI (1962) firent une grande série de mesures sur un appareil similaire et notèrent les différences de comportement mécanique de la peau qui tiennent à l'âge et au sexe (216). HICKMANN (1966) mis au point un appareil de mesure électrique basé sur le même principe.

— La compressibilité de la peau fut également utilisée comme mesure de la viscoélasticité. PAROT & BOURLIERE (1967) obtinrent par cette méthode les mêmes résultats que ceux de la technique de SHADE. Ces auteurs ont décrit le comportement viscoélastique de la peau avec une bonne reproductibilité tout en insistant sur le fait qu'ils mesuraient, à la fois, le derme et le tissu sous-cutané (19).

3.4. Méthodes en torsion :

Les méthodes en torsion sont certainement moins influencées par la teneur en fluides de la peau mais plus sensibles à l'état de la musculature sous-jacente et à sa fonction avec le derme.

— Ces méthodes ont été surtout décrites par FINLAY (133) et sont de préférence employées dans le but de diagnostics pré-opératoires. On obtient là des courbes analogues à celles de l'élastométrie. Dans un test en torsion la peau est soumise à des déplacements rotationnels et on enregistre le couple qui se développe sous forme d'angle de torsion. Les résultats rapportés indiquent que cette méthode est imprécise et limitée quant aux informations qu'elle fournit.

— Dans la méthode en torsion la plus précise, un anneau de protection est appliqué

sur la peau, rattaché à l'instrument appliquant la torsion, afin de limiter la surface testée (170). On imprime une torsion à la peau à une amplitude déterminée et à une vitesse constante et on la maintient pendant un temps donné. On enregistre ainsi des tensions d'amplitudes variées, dans deux sens opposés, sous forme de couple de torsion.

— VLASBLOW (223) qui s'est attaché plus particulièrement à la présentation et à l'interprétation mathématique de cette méthode, a pu obtenir des valeurs caractéristiques et, par exemple, mettre en évidence l'effet de la hyaluronidase sur l'élasticité de torsion, mais n'a pu prouver de relation avec l'âge.

3.5. Méthodes par vibrations :

Enfin, il existe une méthode de détermination de l'élasticité cutanée par mesure des vibrations de la peau humaine vivante, à l'aide d'un élastomètre à ondes courtes (126).

L'appareil permet de mesurer la transmission par la peau d'oscillations mécaniques. Pour cela, on imprime à une tige des oscillations d'amplitude et de fréquence connues, et on la met en contact avec la surface cutanée. Une deuxième tige, disposée à une distance connue de la première, reçoit les oscillations transmises par la peau. Ces dernières sont amplifiées puis enregistrées sur du papier. En modifiant d'une façon continue la fréquence (100 - 300 Hz), il est possible d'enregistrer les oscillations maxima et minima. Lorsque la peau est celle non élastique d'un sujet âgé, le maximum d'oscillations est situé dans la région des fréquences plus élevées (déviations vers la droite) que chez le sujet jeune à la peau élastique.

Cette méthode est utilisée pour déterminer l'effet de l'application d'un produit cosmétique sur la peau.

Les tests *in vivo* constituent l'objectivation finale de l'effet d'un produit sur la peau. Ceci implique en principe des tests sur l'animal suivis de tests sur humain. De tels tests nécessitent cependant des ressources spéciales et sont souvent longs et coûteux. De plus, il est souvent difficile comme nous l'avons vu, d'obtenir des données précises, dans les tests *in vivo*, sur certains paramètres tels que le contenu en eau et les propriétés mécaniques absolues de la peau. Il est désirable, dans ces conditions, d'avoir des tests relativement simples qui peuvent être utilisés pour obtenir de telles informations et donner des indications probables des effets *in vivo*. Les tests *in vitro* sont particulièrement valables quand un grand nombre de matériau est utilisé (117).

Nous savons actuellement qu'il existe une bonne corrélation entre les tests *in vitro*, utilisant un matériau conventionnel et basés sur des principes adaptés d'une manière adéquate aux tissus biologiques, et les méthodes *in vivo*, plus facilement utilisées en recherche clinique, et ceci en dépit du fait que les mesures *in vivo* incluent les tissus sous-cutanés et les fluides circulant dans la peau (216). Cependant, dans les peaux pathologiques il n'existe pas encore de base de comparaison satisfaisante entre les deux méthodes et des recherches plus poussées sont nécessaires pour permettre une différenciation entre les propriétés du derme et celles du tissu sous-cutané. D'un autre côté, les méthodes *in situ* sont pleinement adéquates pour déterminer les changements de l'état de la peau d'un point de vue clinique.

Il a été démontré, par exemple, que l'influence de l'administration topique d'oestrogènes est enregistrable avec précision avec la technique de l'empreinte (118-143).

L'effet de l'administration locale d'une crème au collagène est également détecté par la méthode des vibrations (126).

Cependant, la méthode la plus satisfaisante est une méthode *in vitro* qui permet par la rigueur des conditions expérimentales imposées et par la précision du calcul d'obtenir les propriétés mécaniques absolues de la peau (117).

C'est la méthode dynamométrique utilisant une tension uniaxiale, méthode que nous avons adoptée pour notre travail.

4. La méthode utilisée :

On utilise couramment les méthodes dynamométriques pour déduire le comportement mécanique d'un tissu. Ces méthodes sont les plus répandues mais leur interprétation est souvent très variable. Ces méthodes consistent à tracer, à l'aide d'un dynamomètre, la courbe contrainte-déformation pour en déduire les paramètres caractéristiques de la peau.

Ces paramètres peuvent être physiques ou physiologiques :

— Les paramètres physiques :

- . Le module d'élasticité E qui représente la rigidité de l'échantillon,
- . La résistance à la rupture (ou à la déchirure) R qui représente la solidité de l'échantillon

Ces paramètres sont reliés à une unité de mesure qui est l'épaisseur de la peau.

— Les paramètres physiologiques :

- . La force à la rupture F qui est la contrainte nécessaire à la déchirure du tissu.
- . La limite d'extensibilité du tissu ou allongement à la rupture ΔL_R est la déformation totale du tissu.
- . Les allongements aux faibles contraintes correspondant aux zones élastique, viscoélastique, plastoviscoélastique, de la peau.

Ce sont des paramètres intrinsèques à la peau.

4.1. Appareillage :

On utilise un dynamomètre électronique INSTRON, type TTBM à tension uniaxiale.

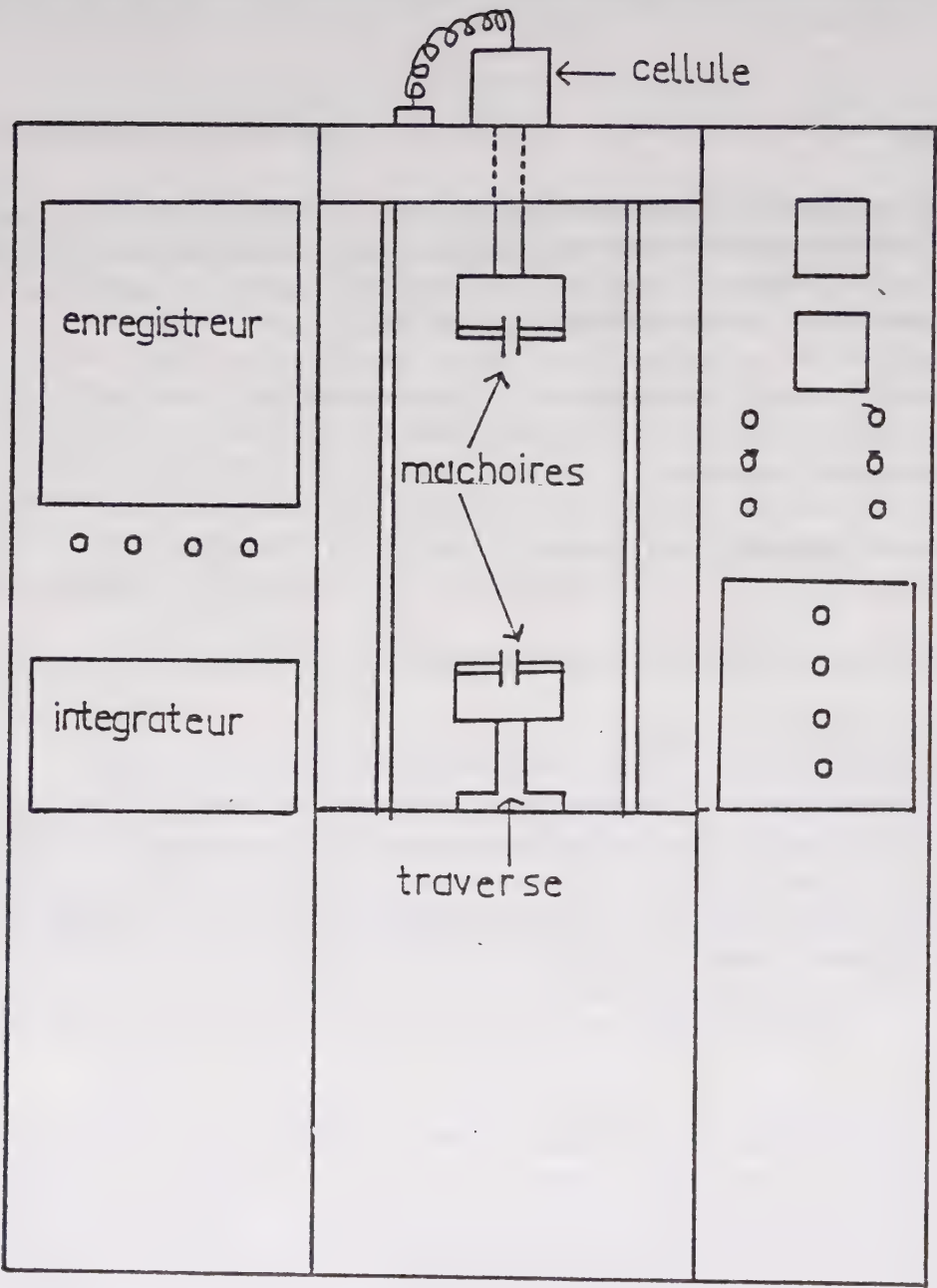
L'échantillon de peau, appelé "éprouvette" est placé entre les mâchoires du dynamomètre. La vitesse de traction est fixée au départ. L'appareil est équipé de quatre cellules différentes permettant des mesures de contrainte allant de 1 gramme à 500 kilos, avec une précision de 1 %.

Les vitesses de traction peuvent aller de 0,05 à 50 cm/mm.

L'adaptation d'une chambre d'ambiance permet d'effectuer des essais à des températures allant de -70°C à $+315^{\circ}\text{C}$.

Cette chambre peut être reliée à un système générateur d'air sec ou humide permettant de travailler dans des ambiances réglables de 0 à 100 % d'humidité relative entre 20° et 100°C .

fig 18: DYNAMOMETRE ELECTRONIQUE



La technicité de l'appareil permet d'effectuer les opérations suivantes :

- courbe contrainte-déformation
- cycles d'hystérésis entre contraintes
- cycles d'hystérésis entre allongements
- cumul des cycles d'hystérésis entre contraintes ou allongements
- relaxations.

4.2. Matériau utilisé :

Voulant nous placer dans les conditions de la Loi d'Avril 1972, du Journal Officiel concernant les expérimentations sur l'animal, nous avons utilisé des lapins de race Albinos, de même âge, de même sexe et de même poids.

Ne connaissant pas les caractéristiques mécaniques de la peau du lapin, aucune référence ne faisant état de cette étude, notre premier objectif fut donc de mettre au point notre méthode de travail sur des lapins non traités.

Cette première étape doit nous fournir un protocole d'essais précis et reproductible.

La seconde étape a pour but d'observer si l'application, sur une peau normale, des "échappées de désodorisation" riches en insaponifiables pouvait engendrer des modifications au niveau du comportement mécanique de la peau.

A cet effet, nous avons récupéré les lapins ayant reçu en traitement itératif, pendant deux mois, différentes compositions des "échappées de désodorisation".

Dans le cas où un effet positif pouvait être décelé, au cours de ces essais, nous avons prévu de faire une étude en parallèle avec des produits du commerce, utilisés exactement dans les mêmes conditions.

Enfin, nous avons envisagé au cours d'une étape finale d'étudier l'effet de corps gras naturels, en l'occurrence l'huile d'amande douce du commerce.

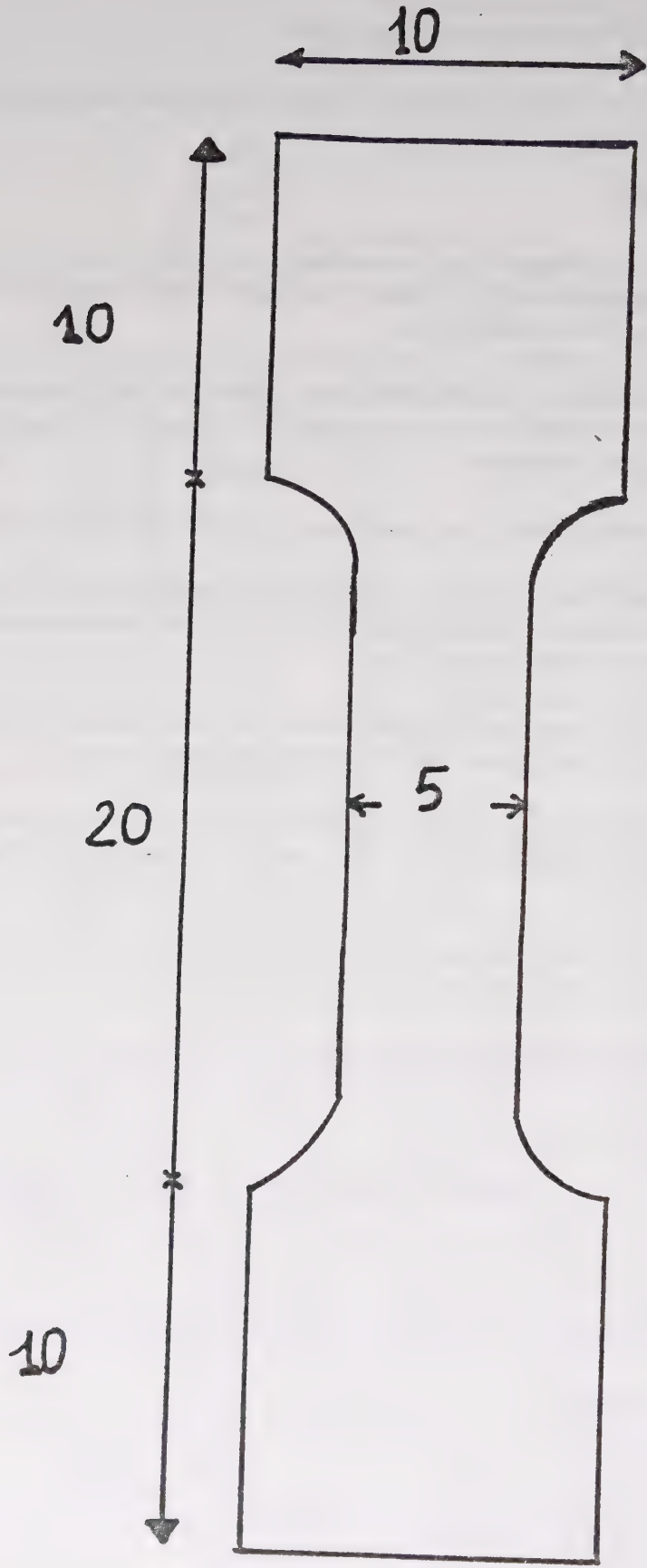
Pour chaque produit testé nous avons utilisé 3 lapins. Le tableau suivant résume les tests effectués.

Produits	Nombre de lapins	Sexe des lapins M ou F.	Nombre d'échantillons ou "éprouvettes".
Aucun	5	M	76
Echappées de Soja	3	M	96
Echappées de Soja-Neobee	3	M	96
(50 : 50) mélange.	3	M	96
Crème à 10 % du mélange	3	M	96
Echappées de Maïs	3	M	96
Echappées d'Arachide	3	M	96
Produit du Commerce X	3	M	96
Produit du Commerce B	3	M	96
Huile d'Amande Douce	2	F	64
Mélange	3	F	96
Crème à 10 % de mélange	3	F	96
10	36		1.099

FIGURE 19 :

EPROUVETTE
DE
TRACTION

CHELLE 5
MENSIONS EN MM



4.3. Conditions opératoires :

4.3.1. Prélèvement des peaux :

Les lapins sont sacrifiés grâce à une injection intraveineuse de barbituriques. On rase le dos et les flancs de l'animal avec une tondeuse électrique. On découpe de chaque côté de l'échine un rectangle de peau en ayant bien soin de ne pas trop tirer sur celle-ci.

Pour les lapins traités, l'un des rectangles sert de témoin, le second correspond à la partie traitée par l'un des produits.

4.3.2. Conservation :

Les peaux prélevées sont conservées au congélateur à -30°C . On les décongèle une par une pour découper les éprouvettes. Le temps de congélation peut varier de 48 heures à 3 semaines.

Dès sa sortie du congélateur, l'échantillon est placé dans un dessiccateur à l'intérieur duquel l'atmosphère est portée à 100 % d'humidité relative grâce à la présence d'un volume d'eau égal à environ un tiers du volume total de l'enceinte.

La température du conditionnement est de 20°C .

4.3.3. La découpe :

Dès leur décongélation, les peaux sont découpées en éprouvettes à l'aide d'une presse hydraulique et d'un emporte-pièce approprié. La forme de l'éprouvette est celle d'une haltère dont les dimensions utiles sont :

- largeur : 5 mm
- longueur : 20 mm (figure 19).

Dans les premiers essais, les éprouvettes étaient découpées dans le sens parallèle et celui perpendiculaire à l'échine, dans un rapport 2/3 - 1/3 et ce afin d'obtenir le maximum d'éprouvettes dans un rectangle donné.

Nous avons modifié notre technique de prélèvement en ne découpant que 8 éprouvettes dans le sens parallèle et 8 autres dans le sens perpendiculaires afin d'avoir, dans les deux sens, le même nombre de mesures d'une part, et de pouvoir prélever toujours aux mêmes endroits d'autre part, ceci nous permettant de comparer les mesures entre le côté témoin et le côté traité (figure 20).

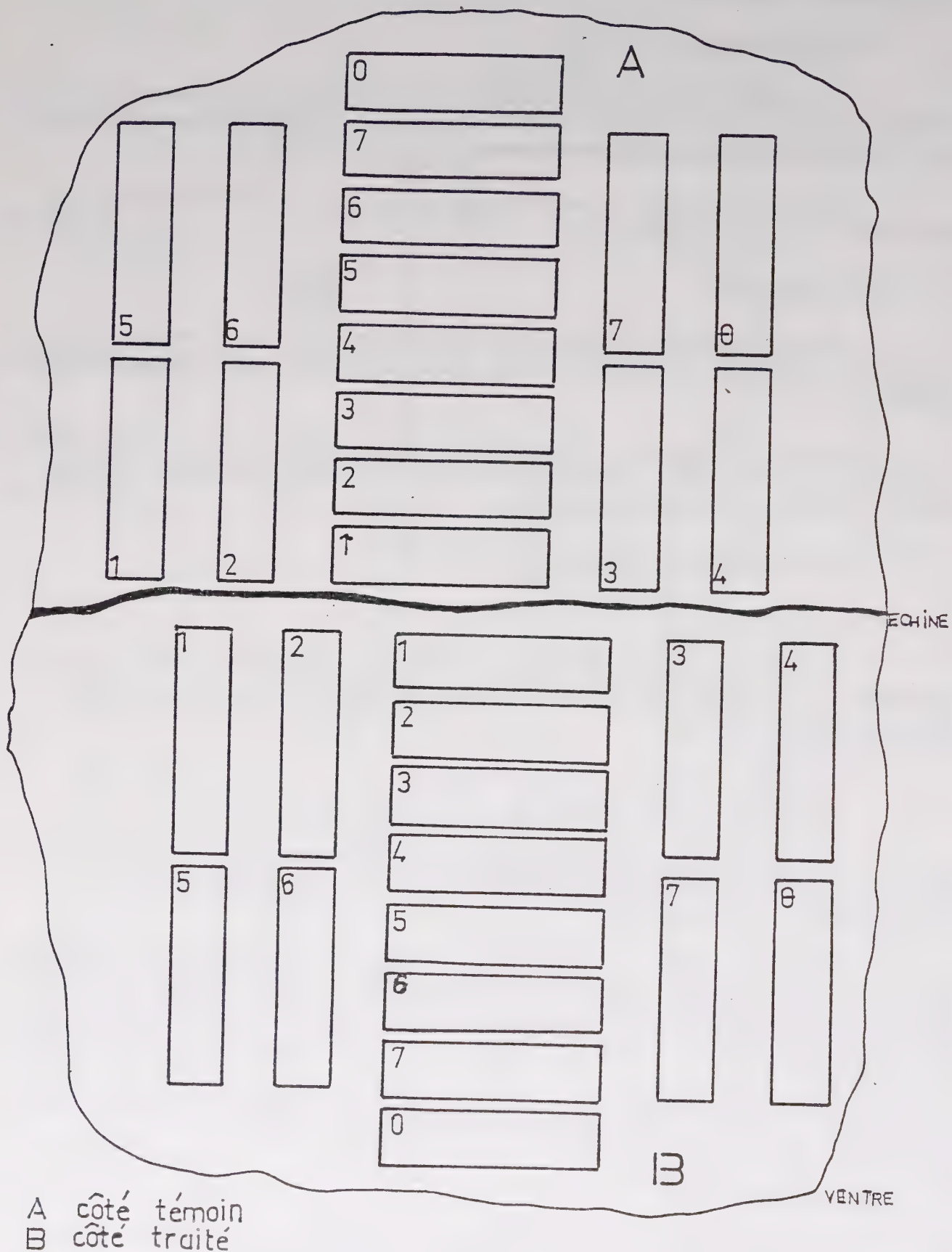
Le sens des éprouvettes est important car on pourra éventuellement déceler l'influence de la position et du sens sur l'orientation des fibres de collagène.

4.3.4. Conditionnement :

Une fois découpées les éprouvettes sont reconditionnées dans le dessiccateur à 100 % d'humidité relative et à 20°C jusqu'au moment de l'essai proprement dit.

La durée de ce conditionnement varie de 15 mm à 8 heures selon l'ordre de passage des éprouvettes.

PLAN DE PRELEVEMENT TYPE



Il faut noter que les premières peaux ont été conditionnées à 65 % d'humidité relative, au-dessus d'une solution saturée de Nitrate d'Ammonium, et que le choix des conditions de 100 % d'humidité relative est dû à un état de deshydratation partielle remarqué sur les peaux conservées à 65 % d'humidité relative.

4.4. Le mode opératoire :

Deux types d'échantillons ont été testés :

- les échantillons pour lesquels l'épaisseur de l'éprouvette était celle de la peau entière, telle qu'elle était prélevée lors de la dépouille.
- les échantillons pour lesquels le tissu sous-cutané a été supprimé en prenant garde de ne pas faire subir de déformation à l'éprouvette.

Quel que soit le type d'échantillons testé, des mesures systématiques de l'épaisseur sont relevées. L'éprouvette est ensuite placée entre les mors du dynamomètre et maintenue en pression par un système pneumatique. L'atmosphère ambiante est alors celle de la salle climatisée dans laquelle se trouve le dynamomètre, c'est-à-dire 65 % d'humidité relative et 20° C.

La vitesse de traction utilisée est de 0,2 cm/mm de façon à limiter le temps d'essai à 15 minutes maximum, tout en conservant une certaine lenteur dans l'application de la contrainte; ceci permet d'améliorer la précision de l'essai.

4.5. Les calculs :

La figure 21 représente la courbe contrainte-déformation d'une éprouvette de peau. Nous retrouvons les quatre phases caractéristiques de l'extension d'un matériau biologique soumis à une contrainte de traction.

1. La phase initiale d'extension est caractérisée par de grands allongements produits par de faibles contraintes.
2. La seconde phase marque un accroissement de la rigidité de la peau avec l'extension.
3. Dans la troisième phase, le graphe est une droite, la pente indiquant une grande rigidité de la peau.
4. La quatrième phase correspond à la rupture de l'éprouvette.

— Les principales mesures effectuées sur cette courbe ont pour but de déterminer avec le maximum de précision :

- le module d'élasticité :

$$E \text{ g/mm}^2 : \frac{\frac{\Delta F}{S}}{\frac{\Delta L}{L_0}}$$

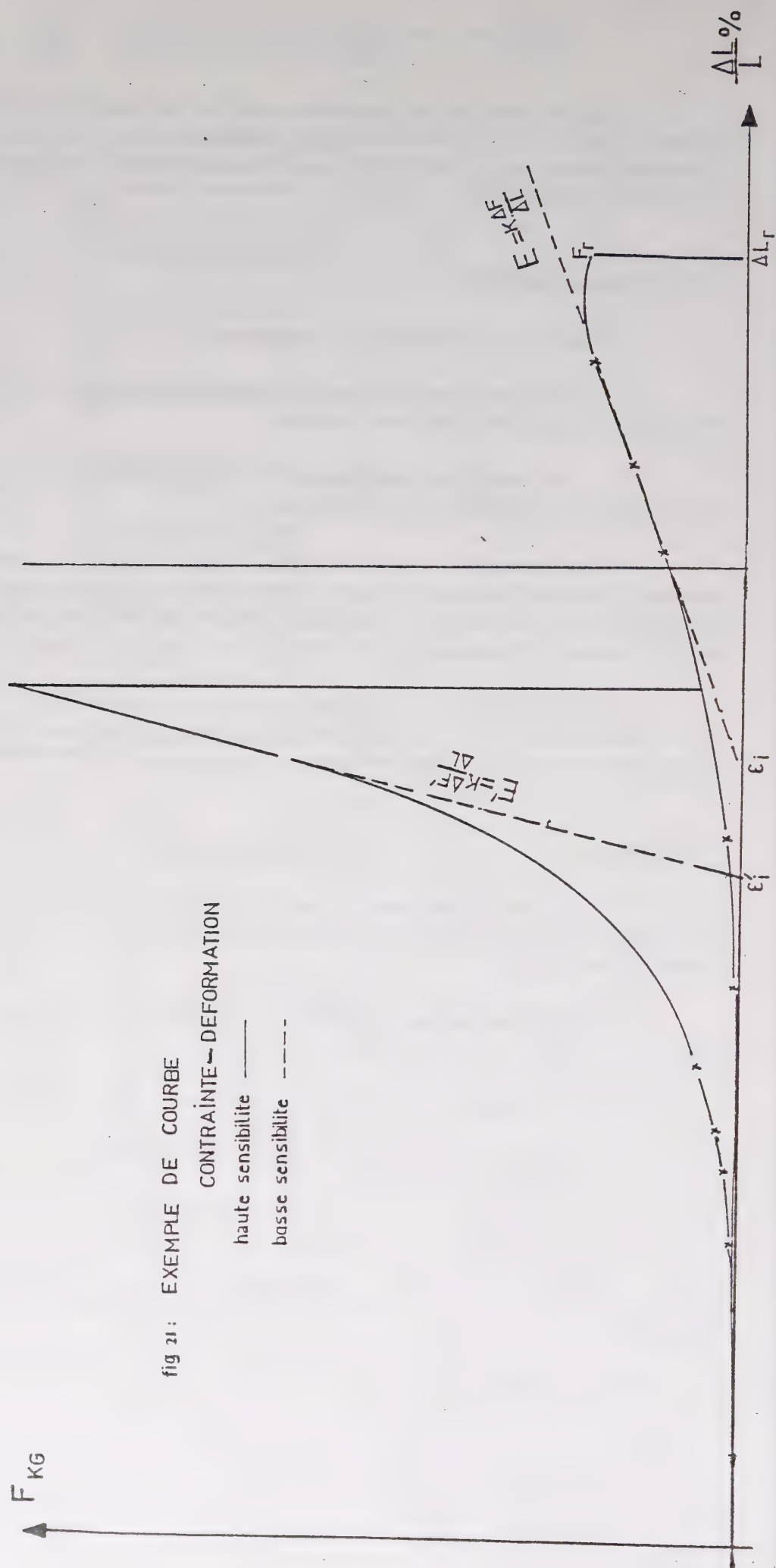


fig 21: EXEMPLE DE COURBE
CONTRAÎNTE ~ DEFORMATION

S : Section de l'éprouvette
 Lo : Longueur initiale de l'éprouvette
 ΔL : Allongement.

- La force à la rupture :

F en kilogrammes représente la contrainte nécessaire à la rupture de l'éprouvette.

- La résistance à la rupture :

$$R : \frac{F}{S} : \frac{F}{e \times l}$$

F : Force à la rupture
 e : épaisseur de l'éprouvette
 l : largeur de l'éprouvette

R est exprimé en g/mm².

- L'allongement à la rupture :

C'est la limite d'extensibilité de l'échantillon qui peut s'exprimer :

- soit en valeur absolue ΔL
- soit en valeur relative $\frac{\Delta L}{L_0} \times 100$

Lo étant la longueur initiale de l'éprouvette.

- Comment interprète-t-on ces divers paramètres ?

Le module d'élasticité des fibres de collagène représente du point de vue biologique, la rigidité de l'échantillon, ou encore, une "élasticité biologique instantanée".

Ce module est proportionnel à la pente $\frac{\Delta F}{\Delta L}$ de la section droite de la courbe.

Un matériau rigide aura un module élevé et par conséquent une extensibilité moindre. Le module et l'extensibilité varient en sens inverse. Pour obtenir un résultat reproductible ce module devra être mesuré sur la partie linéaire de la courbe.

Si ce module représente la résistance à la tension des fibres de collagène, il ne donne aucune indication sur la valeur de déformation à atteindre pour obtenir cette phase linéaire.

Cette notion sera représentée par la valeur E_i qui est la déformation correspondant au point de rencontre du prolongement de la section droite et de l'axe des allongements.

On considérera qu'au-delà de cette déformation, les fibres de collagène sont orientées parallèlement au sens de la contrainte.

4.6. Première expérimentation :

4.6.1. Résultats et interprétation :

— Les résultats que nous rapportons ici correspondent au lot n° 1, c'est à dire à un lot de 4 lapins mâles, de race albinos, de même âge, n'ayant reçu aucun traitement cutané. Ces résultats figurent dans les tableaux 35-36 et sont assez homogènes.

— Cependant, la peau du lapin 4 semble avoir une résistance particulièrement faible, en rapport avec son épaisseur. Elle n'est pas en accord avec les autres résultats et fait sensiblement baisser les valeurs de F , R et ΔL .

L'importance de cette faible résistance est imperceptible au niveau des bas allongements $\Sigma'i$ et Σi .

Les valeurs obtenues sur le lapin 4 font augmenter les marges des écarts maxima en influant sur la moyenne et en éloignant les valeurs extrêmes.

— La prévision des mesures semble être, dans l'ensemble, de l'ordre de 10 à 15 %, selon les valeurs mesurées, entre les moyennes et les écarts maxima.

— l'influence du conditionnement est peu sensible. Il paraît néanmoins que les éprouvettes conditionnées à 65 % d'humidité relative présentent des caractéristiques plus élevées que les autres, ce qui paraît logique. Mais il faut également tenir compte du fait que leurs épaisseurs sont nettement plus élevées.

— De plus, les différences entre les sens parallèle et celui perpendiculaire à l'échine semblent se situer au niveau de F , E et R qui sont sensiblement inférieurs dans le sens parallèle, et ceci pour des épaisseurs identiques.

Le sens ne semble pas nettement jouer au niveau des allongements ΔL et Σi , par contre $\Sigma'i$ semble supérieur en sens parallèle.

Il est communément admis que la peau est moins extensible et possède une plus grande résistance à la traction dans le sens de la direction préférentielle des fibres de collagène.

Il semblerait donc, considérant cette première expérimentation que les fibres de collagène de la peau du lapin semblent avoir une direction préférentielle dans le sens perpendiculaire à l'échine.

Nous ne pouvons affirmer cette conclusion étant donné le peu de valeurs que nous possédons au niveau des allongements. Nous devons donc multiplier les mesures des allongements, à 25, 100 et 1000 grammes de contrainte, c'est-à-dire dans la phase précédant Σi .

En effet, il semble que les élongations correspondant aux variations dimensionnelles de la peau lors des mouvements du corps se situent dans la phase précédant Σi .

Malheureusement cette zone est la plus difficile à cerner pour les raisons suivantes :

D'une part, la peau possède dans cette zone un module d'élasticité très bas qui peut engendrer de grandes déformations pour de faibles contraintes, et de ce fait, il est possible d'avoir

Tableau 35

Résultats du Lot N° 1 (moyennes et écarts) :

Sens		PARALLELE										PERPENDICULAIRE										
Paramètres	e	Σi	$\frac{\Delta F'}{\Delta L'}$	E'	Ei	$\frac{\Delta F}{\Delta L}$	E	F	R	ΔL	e	Σi	$\frac{\Delta F'}{\Delta L'}$	E	Σi	$\frac{\Delta F}{\Delta L}$	E	F	R	ΔL	Conditionnement	
I	2.35	12	255	490	18.8	1160	1890	11.9	938	28.5	2.35	8.3	433	382	18.6	1508	2936	14.2	1250	28	65 % H.R.	
II	2.04	11	275	556	17.2	1270	2650	11.3	1140	27	2.35	10	370	628	18	1417	2418	12	1043	27.4	65 % H.R.	
III	2.25	10.2	340	600	14	1200	2150	10.7	960	23.9	2.03	8.8	304	597	18	1838	3618	16	1600	27.2	100 % H.R.	
IV	1.91	10.2	320	690	14	900	1880	6.5	690	23.1	1.77	10.3	444	1080	12.8	1095	2553	6.8	800	19.5	100 % H.R.	
Moyennes	2.14	10.8	298	733	16	1132	2680	10	1164	25.6	2.15	9.4	362	840	16.8	1464	3800	12.3	1470	25.5		
Ecart maxima en valeur absolue	+0.21 -0.23	+1.2 -6.6	+43 -43	+135 -117	+2.8 -2	+136 -236	+624 -330	+18 -36	+262 -304	+2.9 -2.5	+0.2 -0.38	+0.9 -1.1	+82 -58	+510 -362	+1.8 -4	+374 -370	+721 -780	+3.8 -5.5	+537 -460	+2.5 -6		
Ecart maxima en %	9.8 10.7	11 5.5	14 14	18 16	17 12	12 20	23 12	17 35	22 26	11 10	9.3 17.5	9.5 11.7	24 16	60 43	10.7 21	25 24	18 20	29 44	36 31	9.8 23		

Tableau 36

Caractéristiques statistiques du Lot N° 1 :

Lapins	Variables Caractéristiques	e cm	E g/mm ²	F kg	Δl_R cm	R g/mm ²
1	Moyenne	2.3	2118	12.4	28.2	965
	Ecart type	0.1	646	3.7	5.14	280
	C.V. %	5	30	29	18	29
2	Moyenne	2.1	2554	11.5	27	1104
	Ecart type	0.3	385	2.3	3.64	247
	C.V. %	13	15	11.5	13	22
3	Moyenne	2.1	2678	12.5	24.9	1179
	Ecart type	0.23	976	3.6	4.9	393
	C.V. %	10	36	28	19	33
4	Moyenne	1.8	2206	6.6	20.9	734
	Ecart type	0.25	749	1.92	4.9	224
	C.V. %	14	34	28	23	30
C.V. Moyen %		11	28.7	26	18	28.5

des déformations parasites dues au poids même de l'éprouvette ; ce qui produit un effet analogue à un écoulement visqueux.

D'autre part, la pression exercée par les mordaches sur les épaulements de l'éprouvette peut créer des déformations de cette dernière qui ont pour effet d'augmenter la longueur initiale, l_0 , de l'éprouvette. Ces deux premières raisons entraînent une impression sur l_0 et donc sur le point de départ de la courbe contrainte - déformation.

De plus, le faible module d'élasticité de la peau dans cette zone rend très imprécise la lecture de la courbe qui est souvent confondue avec l'axe des allongements.

Pour pallier ces inconvénients plusieurs mesures peuvent être prises :

- Augmentation de la sensibilité de la cellule jusqu'à pouvoir déceler une contrainte de 1 gramme.
- Augmentation de la sensibilité de l'appareil afin de multiplier par dix les effets décelables sur la courbe.
- Utilisation d'une vitesse d'enregistrement multiple de la vitesse de traction de telle sorte qu'un allongement de 1 mm au niveau de l'éprouvette se traduise par un allongement de 1 cm sur le papier.
- Multiplication des mesures décelables dans la zone comprise entre 0 et 1000 grammes. A cet effet, on notera donc :
 - . des allongements, absolu et relatif, correspondant au moment où la courbe confond l'axe des allongements : ΔL_0 .
 - . des allongements obtenus pour des contraintes de 25, 100 et 1000 grammes : $\Delta L_{25} - \Delta L_{100} - \Delta L_{1000}$.
- Enfin, afin d'éviter les erreurs dues au fluage de la peau sous son propre poids et de supprimer les erreurs de manipulation, on a systématiquement effectué un pré-positionnement de l'échantillon sur une éprouvette en chlorure de polyvinyle, découpée à l'aide du même emporte-pièce et ayant donc les mêmes dimensions que l'échantillon de peau testé.

Par ailleurs, nous étant aperçus qu'il existait une grande hétérogénéité entre les peaux des lapins de même race, de même sexe et de même âge et que cette hétérogénéité existe aussi chez un même lapin, nous avons adopté une méthode de prélèvement de telle sorte que l'ensemble des éprouvettes prélevées sur une même peau soit indépendant du sens tête-queue, échine-ventre (figure 20).

Conclusion :

Cette première expérimentation nous a permis de mettre au point notre méthode, notamment en mettant à profit les moyens expérimentaux.

Elle nous a permis de constater qu'il existe une certaine hétérogénéité entre des lapins de même race, de même sexe, de même âge. Cette hétérogénéité existe, pour un même lapin, entre les différentes zones de la peau. Il faut donc faire preuve d'une certaine prudence au niveau de l'interprétation.

Il faut travailler sur des lots les plus homogènes possibles et compter au minimum 32 essais par lapin pour avoir des résultats interprétables : une étude statistique est indispensable.

L'influence de l'humidité paraît faible car le temps de l'essai est court, il est cependant préférable de travailler dans des conditions standard (65 % d'humidité relative et 20° C).

4.7. Deuxième expérimentation : Lot n° 2 :

Nous avons réalisé cette expérimentation sur des lapins de race albinos, de même sexe, de même âge, ayant été traités pendant huit semaines.

lapins	Traitement*	Nombre d'éprouvettes	Nombre de paramètres	Nombre d'essais
2	Caème	64	11	704
2	Mélange	64	11	704
1	Soja	32	11	352
5	3	160	11	1760

(*) Traitement :

Mélange : "échappées de désodorisation" de Soja diluées dans du Neobee M5 à parties égales.

Crème : formulation à 10 % du mélange

Soja : "échappées de désodorisation" de Soja, brutes.

4.7.1. Résultats et interprétation :

Les résultats figurent dans le tableau 37 . On peut remarquer que le coefficient de variation fluctue de 6 à 30 % en moyenne, qu'il diminue pour les peaux traitées. On peut penser que le traitement produit une certaine homogénéisation des effets. Nous avons représenté les valeurs obtenues par les courbes suivantes, pour les principaux paramètres étudiés.

On peut remarquer que la résistance à la déchirure R est supérieure dans le sens perpendiculaire à l'échine pour les échantillons non traités. Cette différence entre les deux sens, parallèle et perpendiculaire à l'échine, s'accroît encore pour les échantillons traités.

F et E varient dans le même sens que R.

Par contre, les allongements sont nettement supérieurs dans le sens parallèle à l'échine et la différence entre sens parallèle et sens perpendiculaire d'une part, peau traitée et peau non traitée d'autre part, devient moins importante à mesure que la contrainte augmente, c'est-à-dire qu'on approche et atteint la phase 3 de la courbe (figure 22).

LAPIN 267 SENS PARALLELE

FIGURE 22

- ▲ PEAU TEMOIN
- PEAU TRAITEE

E	R	LR
1350	376	25,5
569	210	35,3

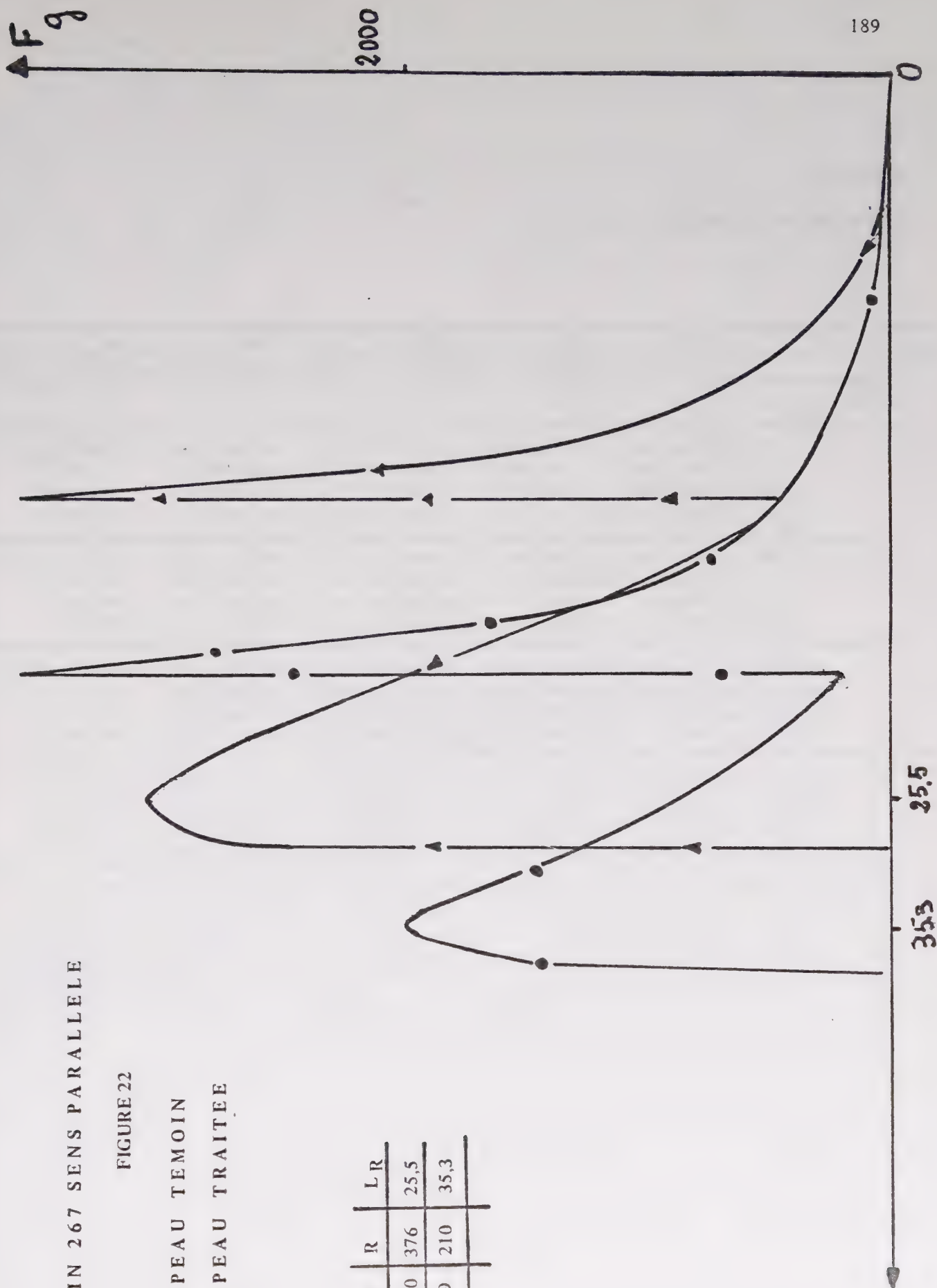


Tableau 37

Caractéristiques statistiques du Lot n° 2 :

Lapins Variables			Crème			Crème			Mélange			Mélange			Soja		
			Lapin 1 :			Lapin 2 :			Lapin 3 :			Lapin 4 :			Lapin 5 :		
			$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V
e	NT	//	1.36	0.10	7.7	1.30	0.10	8	1.37	0.07	5.6	1.28	0.10	8.5	1.45	0.10	6
	T	//	1.40	0.20	6.5	1.46	0.10	7	1.50	0.08	5.8	1.50	0.08	7	2	0.12	6
	NT	⊥	1.43	0.04	3	1.22	0.10	10	1.30	0.09	7	1.36	0.03	2.5	1.33	0.03	2.8
	T	⊥	1.37	0.03	2.4	1.42	0.08	5	1.40	0.11	8	1.52	0.09	6.5	1.75	0.17	10
E	NT	//	2900	680	23	3340	460	14	3030	557	18	1315	355	27	1824	161	9
	T	//	2770	568	20.5	3160	310	10	2524	288	11	1424	362	25	927	391	42
	NT	⊥	3030	909	30	3680	270	7	2653	364	14	1782	567	32	3580	150	4
	T	⊥	3870	—	—	3220	410	13	3447	628	18	3259	149	4.5	2730	499	18
R	NT	//	937	171	18	1190	130	11	973	114	11.5	549	66	12	648	60	9
	T	//	957	169	18	1050	180	17	906	132	14.5	556	142	25.5	382	98	26
	NT	⊥	1125	337	30	1350	160	12	1058	159	15	749	130	17	1278	78	6
	T	⊥	1269	—	—	1180	170	15	1330	270	20	1120	43	4	1180	267	15
ΔL_0	NT	//	2.3	0.6	27	1.5	0.8	53	4	1.32	33	4.3	1.5	35	4.5	1.8	39
	T	//	3.2	0.6	18	3.7	0.5	13	5	1.36	27	5.4	2	37	5.2	2.1	41
	NT	⊥	2.3	0.7	31	1.2	0.3	25	2.8	1.03	37	4.5	2.18	48	3.4	0.92	26
	T	⊥	1.2	0.4	34	2.2	0.6	29	3.1	0.63	20	2.7	0.84	31	3.6	1.2	32
ΔI_{25}	NT	//	10.6	1.05	10	7.7	1.3	17	10.4	1	10	9.7	1.6	16	10.7	2.03	19
	T	//	12	2.3	19	9.2	1.0	11	13	1.48	11	13	2	15	10.3	2.76	17
	NT	⊥	9.9	0.79	8	7.4	0.9	13	6.4	1.5	24	9.3	2.18	23.5	10.5	0.35	3
	T	⊥	5.8	1.1	19	8.3	1.5	18	10.3	2.18	21	7.5	1.25	17	12.3	1.92	15

Lapins variables	NT et T	// et $\perp$	Lapin 1 :			Lapin 2 :			Lapin 3 :			Lapin 4 :			Lapin 5 :		
			$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V
ΔL_{100}	NT	//	14.3	1.17	8	12.2	1.6	13.	14	1.1	8	14	1.37	10	14.2	1.6	11
	T		16	2.4	4	12.5	1	8	17	1.48	8.7	17.2	2.4	14	12.3	3	24
	NT		13.5	0.96	7	10.8	1.5	14	11	1.65	15	15	3	19	13.8	0.4	3
	T	$\perp$	9	1.2	13	11.5	1.9	16	14	2.6	19	10.3	1.9	18.5	16	1.2	7.5
ΔL_{1000}	NT	//	19	1.76	9	18	1.8	10	21.8	3.65	16.5	22	1.54	7	19.8	2.03	10
	T		21	2.50	12	17.3	1	6	22.2	1.72	7.7	21.8	3	13.5	16.6	3	18
	NT		18.8	1.5	8	16.8	1.6	10	18.4	2	11	22	4.2	19	18.7	0.5	3
	T	$\perp$	14	1.1	8	16.5	2	12	19.4	2.4	12.5	15.5	1.37	8.8	21.7	0.9	4
ΔL_R	NT	//	26.3	2.4	9.4	26.5	2.7	10	28	4.2	15	29.5	1.24	4	28.3	2.01	9.5
	T		28	2.5	9	24	1.5	6	30	2.15	7	30.8	2.66	8.5	22.7	3.36	15
	NT		27.5	1.8	6.7	25	2.8	11	28	3.1	11	29.3	4.8	16	26.7	1.12	4
	T	$\perp$	22.4	1.3	11	24.9	2.3	9	28.5	1.8	6	23.4	2	8.5	30.5	0.93	3
F	NT	//	6.5	1.6	25	7.7	1.1	14	6.6	0.66	10	3.5	0.5	14.5	4.7	0.7	14.7
	T		6.6	1	15.7	7.5	0.8	10	6.7	1.18	13.5	4	0.9	22.5	4	1.2	30
	NT		8	2.5	31	8.2	1.08	13	6.8	1.23	18	5	0.9	18	8.7	0.7	8
	T	$\perp$	8.7	0.6	7	8.3	0.7	8	9.2	1.36	15	9.5	0.5	6	9.3	1.2	13

 $\bar{x}$: moyenne σ : écart-type

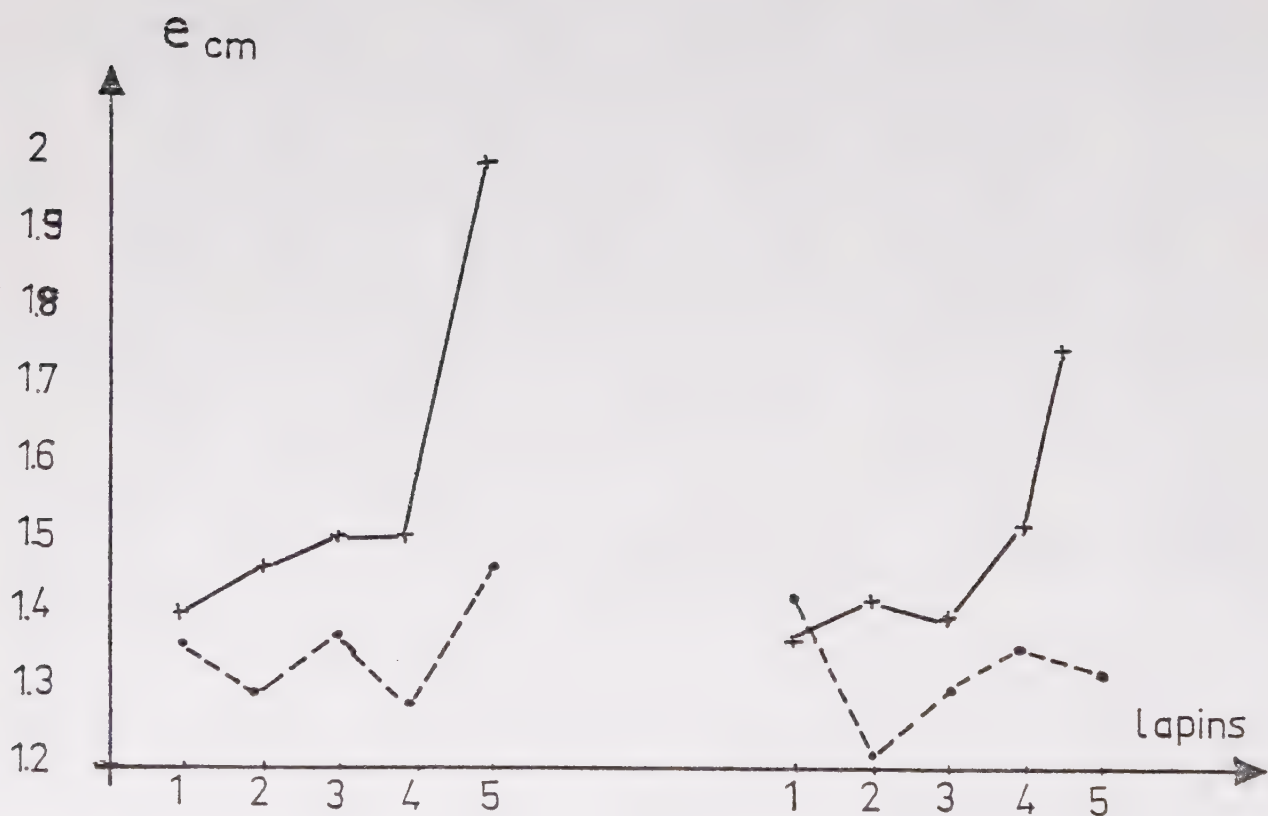
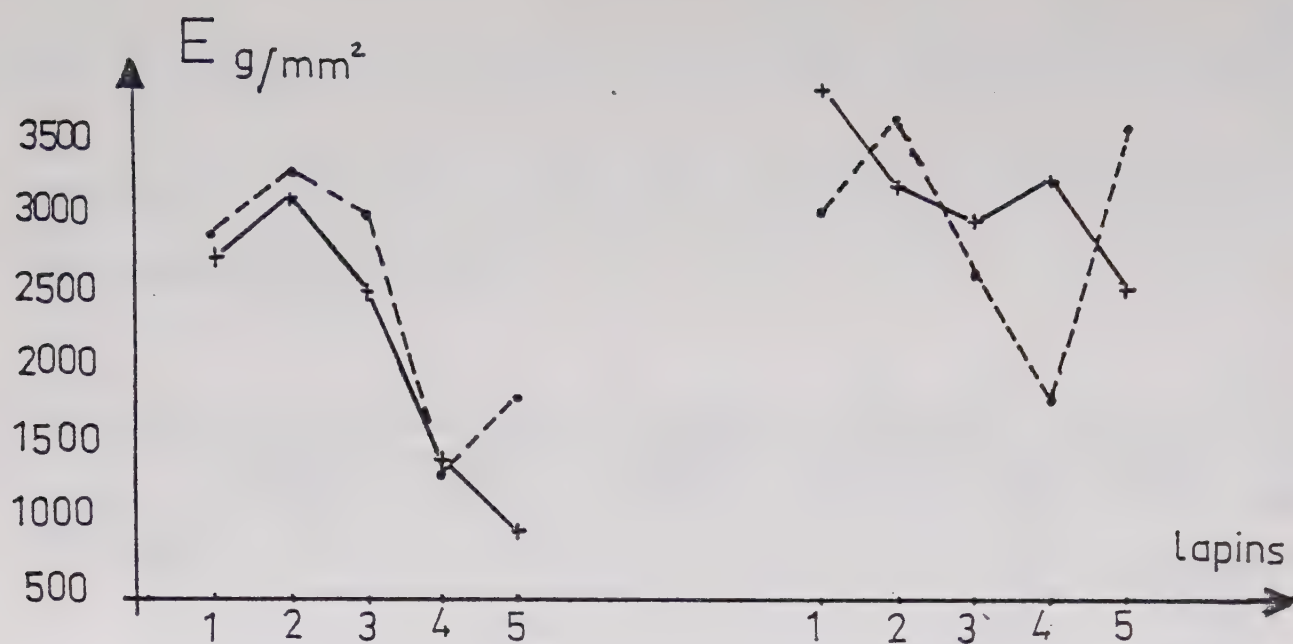
C.V : coefficient de variation en %

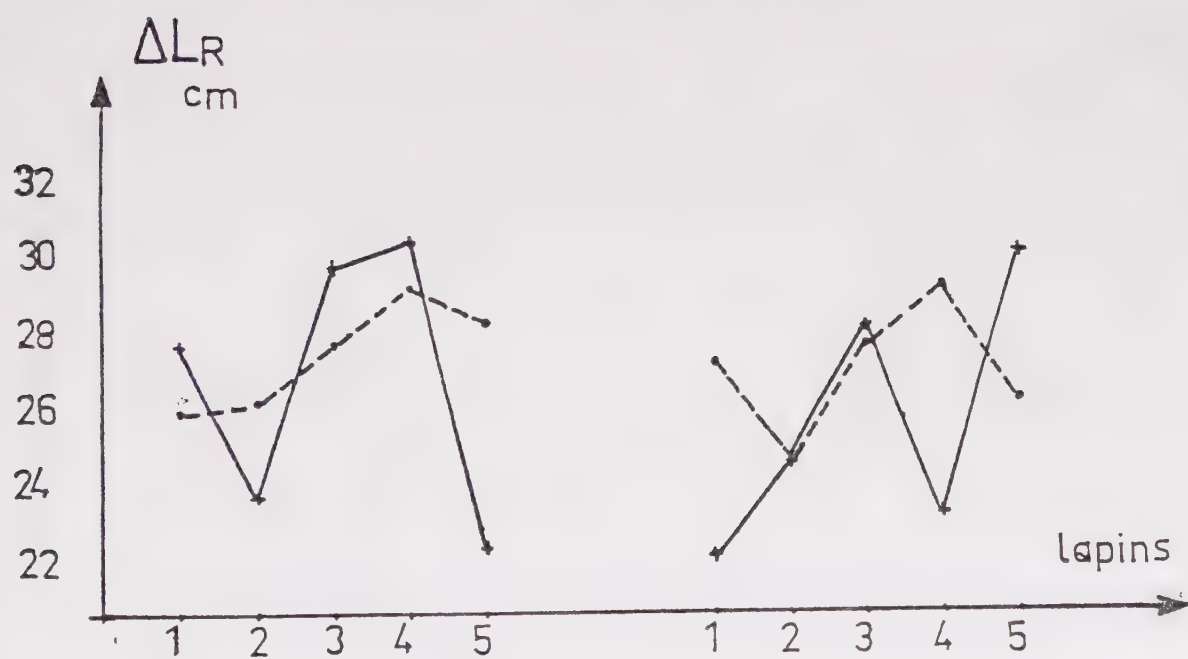
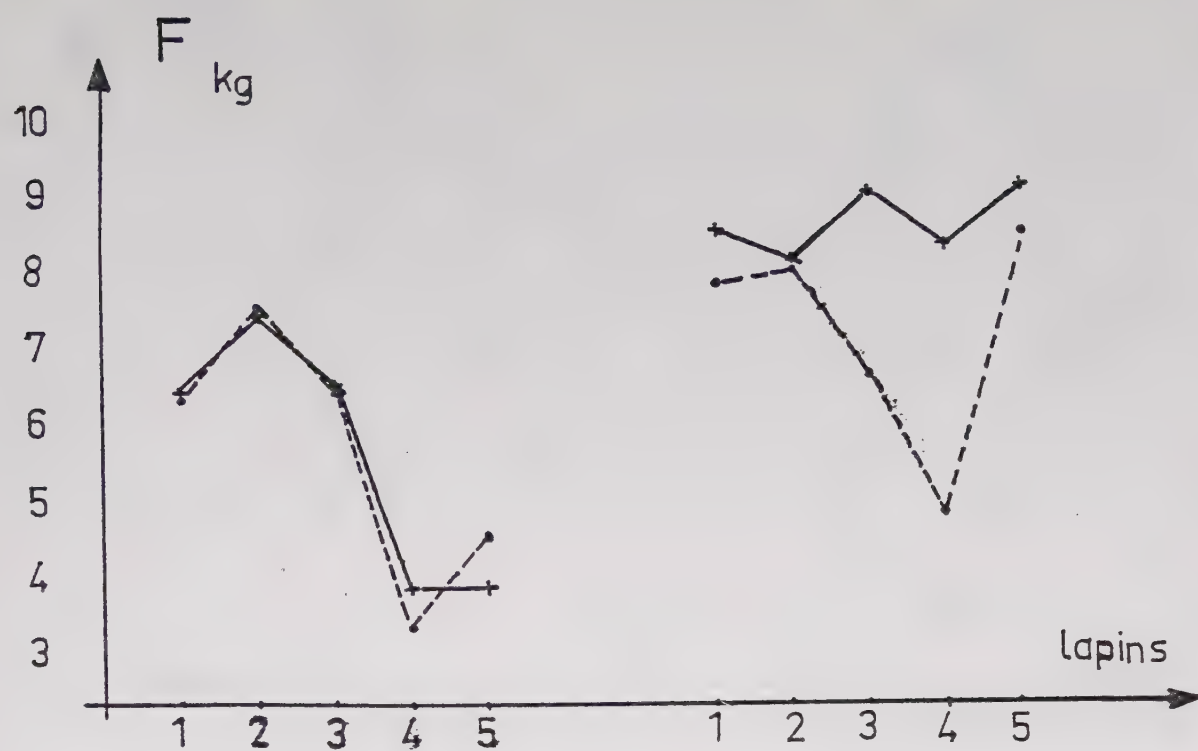
NT : non traité

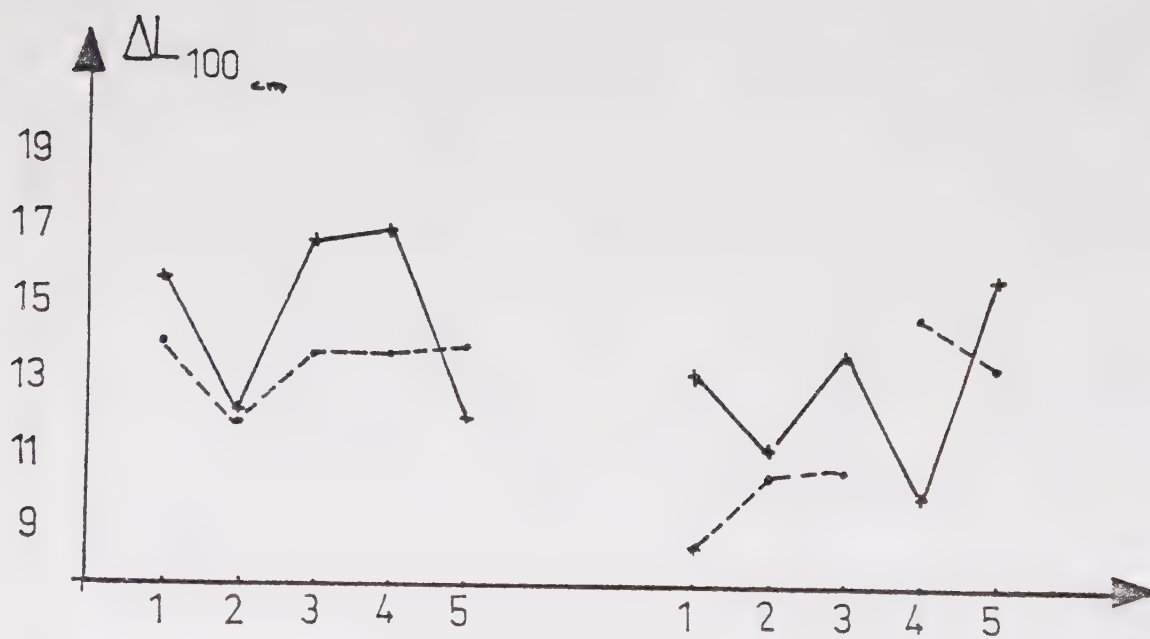
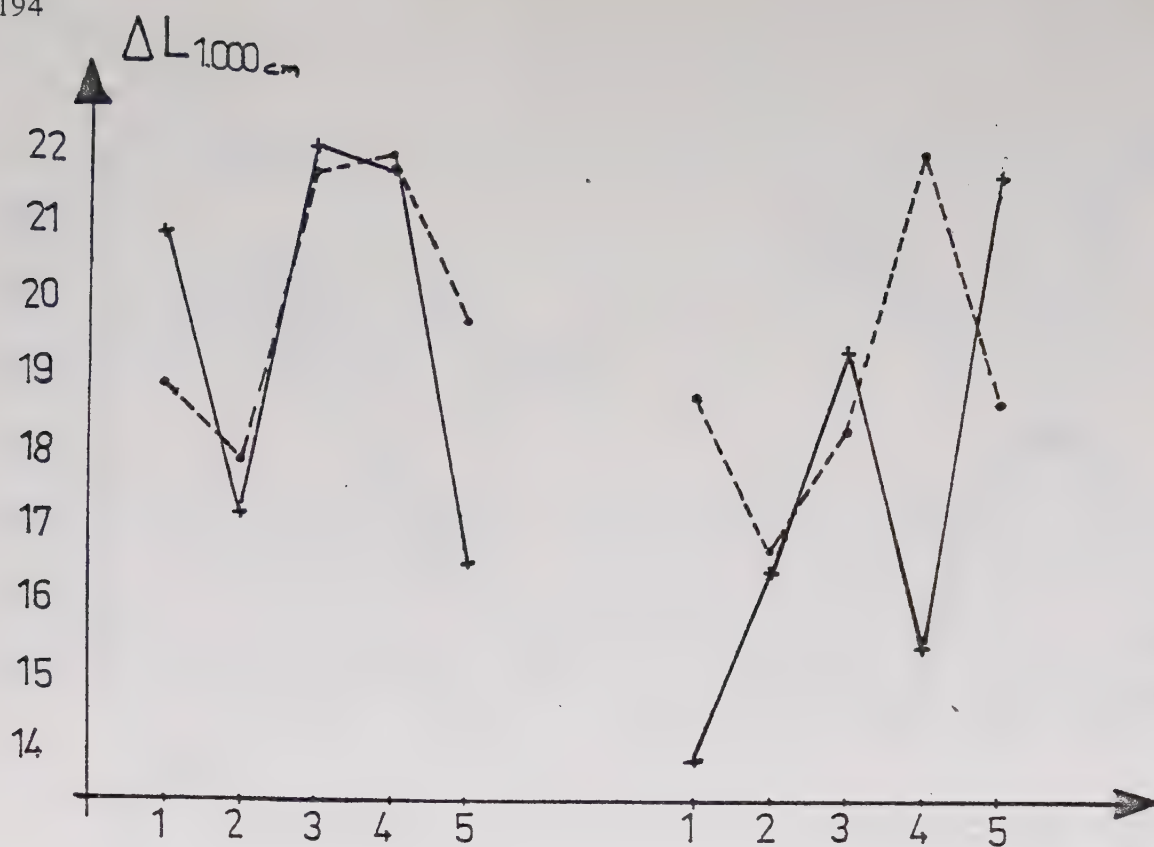
T : traité

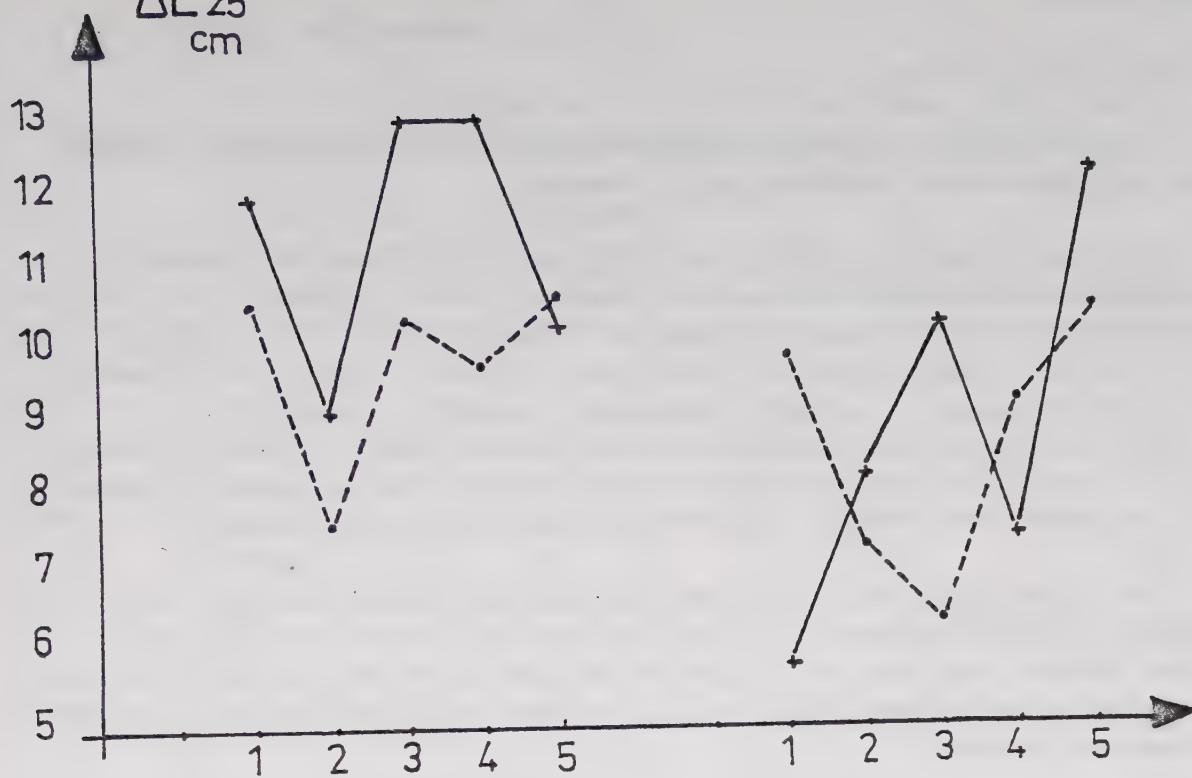
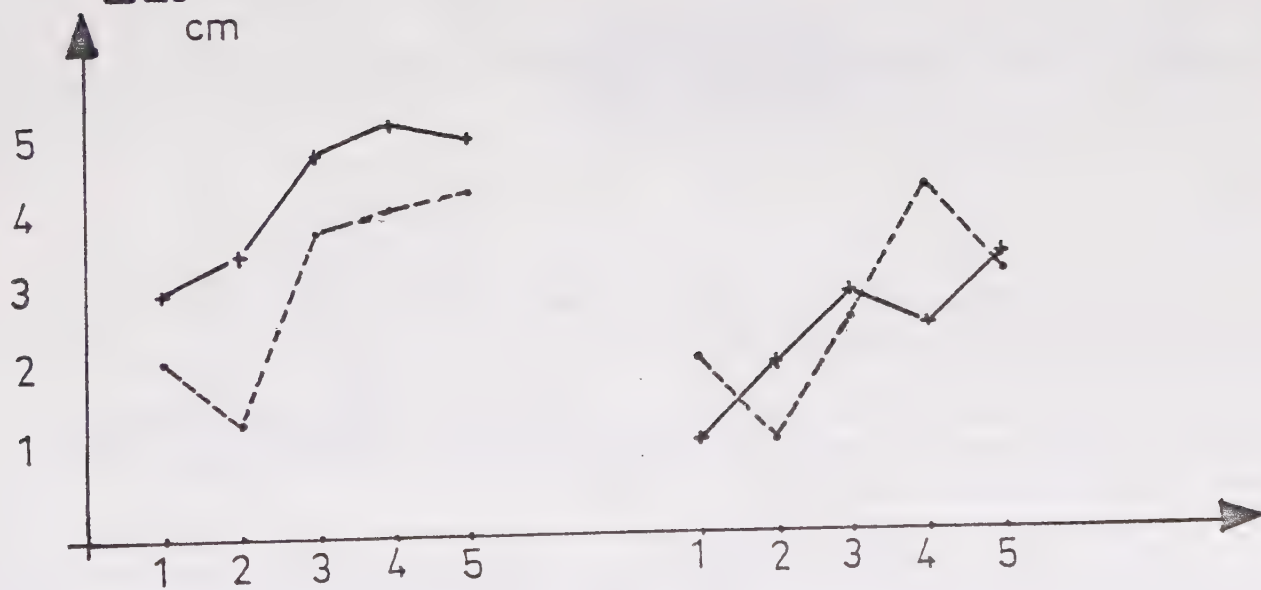
// : éprouvette parallèle à l'échine

 $\perp$: éprouvette perpendiculaire à l'échine







ΔL_{25}
cm

 ΔL_0
cm


4.7.2. Conclusion :

On peut donc dire que :

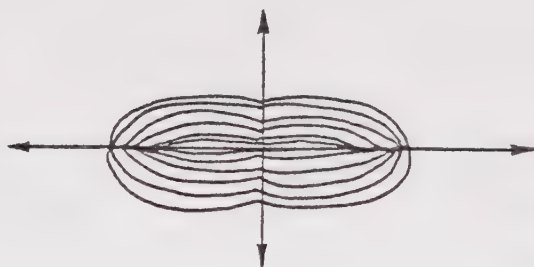
1. Les fibres ont une orientation préférentielle dans le sens perpendiculaire à l'échine de l'animal et cette orientation est renforcée par le traitement.

2. On s'aperçoit qu'on a un effet plus grand quand on tire perpendiculairement à cette orientation préférentielle (éprouvette prise en sens parallèle à l'échine), c'est-à-dire qu'il existe une phase d'orientation des fibres plus longue entraînant des allongements ($\Delta L_0 - \Delta L_{25} - \Delta L_{100}$) supérieurs avant de tirer sur la fibre elle-même c'est-à-dire avant d'atteindre la phase 3 de la courbe.

Sur les éprouvettes prises dans le sens perpendiculaires à l'échine, la phase d'orientation est beaucoup plus courte et on tire plus rapidement sur la fibre elle-même qui oppose rapidement sa résistance à l'extension : les fibres sont donc orientées dans le sens de la contrainte.

3. Dès que les fibres sont orientées dans le sens de la contrainte ($\Delta L_{1000} - \Delta L_R$) on n'a plus d'effet sens ou d'effet traitement. On peut donc dire que le traitement ne semble pas aigu sur la fibre elle-même mais plutôt sur l'orientation des fibres et peut être sur les pontages interfibrillaires. Le traitement agit surtout dans la zone la plus proche de la zone élastique et intervient lors du réarrangement des fibres.

4. Pour schématiser ce phénomène, on peut comparer grossièrement un faisceau de fibres de collagène à une pelote de laine, faisceau dans lequel les fibres seraient orientées dans le même sens.



Quand on tire dans le sens 1 on tire rapidement sur chaque fil, et la phase d'orientation des fils dans le sens de la contrainte est très court.

Par contre, quand on tire dans le sens 2, c'est-à-dire dans le sens perpendiculaire à l'orientation des fils, la phase d'orientation des fils dans le sens de la contrainte est beaucoup plus longue et l'on tire beaucoup moins vite sur le fil lui-même.

Bien sûr, le cas de la pelote de laine est un cas idéal. Dans un tissu biologique les fibres ne sont pas toutes orientées dans le même sens mais elles ont comme nous l'avons vu une orientation préférentielle.

Dans le cas du lapin, l'orientation préférentielle se situe plutôt perpendiculairement que parallèlement à l'échine.

4.8. Troisième expérimentation : Lot n° 3 :

Cette étude a été réalisée sur des lapins de race albinos, de sexe femelle, d'un poids variant de 1 kg 800 à 2 kg. Trois traitements ont été testés. Il s'agit de :

- l'huile d'amande douce : HAD
- le Mélange) ceux utilisés dans la seconde expérimentation.
- la crème)

Nombre de lapins	Traitement	Nombre d'éprouvettes	Nombre de paramètres	Nombre d'essais
2*	H.A.D.	64	11	704
3	Crème	96	11	1056
3	Mélange	96	11	1056
8	3	256	11	2816

2* : l'un des trois lapins traités par l'huile d'amande est mort durant le traitement.

4.8.1. Résultats et interprétation :

Les résultats figurent dans le tableau 38. Le coefficient de variation se situe entre 9 et 40 % avec une fréquence de :

9	%	pour	e
28	%	pour	E
27	%	pour	R
23	%	pour	F
40	%	pour	ΔL_o
16	%	pour	ΔL_{25}
13	%	pour	ΔL_{100}
12	%	pour	ΔL_{1000}
10.6	%	pour	ΔL_R

Le coefficient de variation, entre les éprouvettes témoins et les éprouvettes traitées, augmente pour E, R et F, diminue pour les allongements.

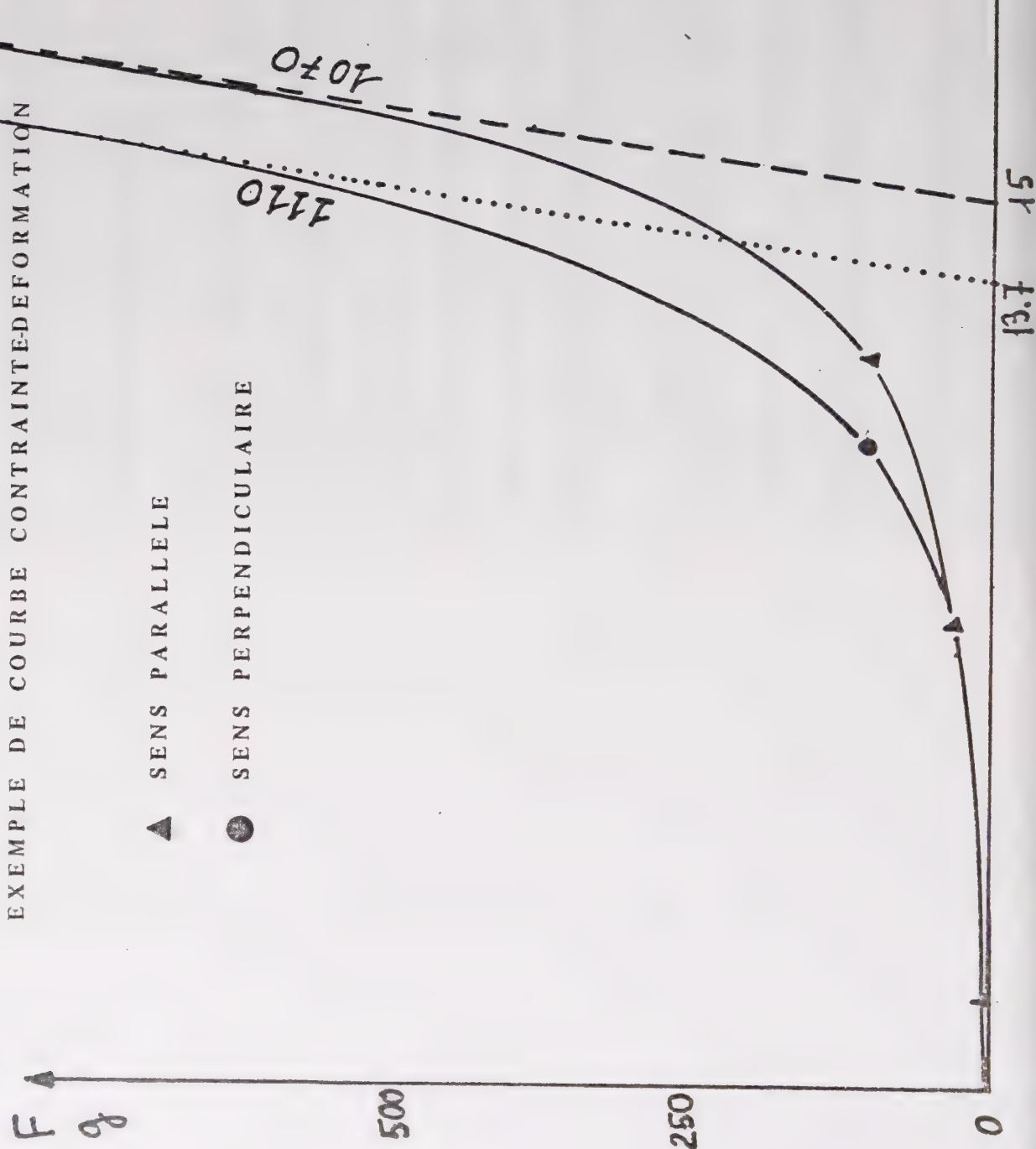
4.8.2. Conclusion :

Comme pour le lot n° 2, on remarque que les allongements sont plus faibles et les résistances plus fortes en sens perpendiculaire à l'échine. Cependant, les résultats sont moins constants que dans les lots précédents.

TABLEAU 38 : Caractéristiques statistiques du Lot n° 3 :

Traitement	NT et T	// et ⊥	H.A.D. Lapin 1 :			Crème Lapin 2 :			Crème Lapin 3 :			Crème Lapin 4 :		
			$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V	$\bar{x}$	σ	C.V
e	NT	//	1.55	0.122	8	1.32	0.067	5	1.46	0.152	10	1.38	0.099	7
	T		1.57	0.340	22	1.58	0.087	5.5	1.56	0.088	5	1.55	0.106	6.8
	NT	⊥	1.42	0.064	4.5	1.30	0.072	5.5	1.66	0.106	6.5	1.43	0.118	8
	T		1.60	0.261	16	1.48	0.119	8	1.70	0.159	9	1.45	0.084	6
E	NT	//	1248	164.13	13	630	177.45	28	1100	367.2	33	1220	204.83	16.7
	T		1093	450	41	590	66.21	11	562	132.47	23	1000	164.45	16
	NT	⊥	1412	283.7	20	1190	132.04	11	925	307.09	33	1374	215.47	15
	T		1362	283.3	20	1030	176.61	17	158	148.85	94	1580	517.31	33
R	NT	//	410	40.901	10	258	98.174	38	396	149.68	38	354	62.993	17.8
	T		400	140.41	35	240	74.425	31	221	41.706	18.8	275	46.739	17
	NT	⊥	400	61.24	15	411	144.71	35	380	114.53	30	407	71.956	17
	T		431	107.29	25	403	123.8	30	244	97.037	40	478	126.5	26
ΔL_o	NT	//	0.20	0.141	71	3.4	2.255	66	0.8	0.447	53	2.5	1.086	42
	T		0.53	0.159	30	5	2.750	55	1.18	0.780	65	2	0.597	29
	NT	⊥	0.95	0.685	72	3.5	1.185	33	0.6	0.565	85	2.6	1.229	46
	T		0.58	0.216	36	1.8	0.473	26	1.13	1.021	90	2.3	0.608	25
Δl_{25}	NT	//	13.55	1.875	14	11.7	3.244	27.5	14.6	2.155	14.7	11.8	2.383	20
	T		16.2	3.042	18	15	3.414	22.7	13.2	1.933	14	8.5	0.992	11.5
	NT	⊥	12.9	0.822	6	10.2	0.986	9.7	12.5	1.594	12.7	10.3	1.313	12
	T		12.8	1.877	14.5	10.6	123.8	9	11	2.824	25	10.5	1.409	13
Δl_{100}	NT	//	16.6	2.021	12	17.3	3.640	21	19	2.285	12	15.6	2.386	15
	T		19.8	4.604	23	21.7	3.405	16	17.7	2.952	16	12	1.716	14
	NT	⊥	16	0.621	4	14.4	1.008	7	17	1.198	7	14	1.440	10
	T		16.3	1.898	11	15.8	3.126	19.8	15	3.384	22	14	1.407	10
ΔL_{1000}	NT	//	21.5	2.361	11	28.8	4.763	16	24.6	2.441	10	20.6	2.675	13
	T		25	5.571	22	32.2	3.926	12	24.7	3.645	15	18.3	3.013	16.5
	NT	⊥	21.3	0.568	2.5	25.2	2.013	8	26	2.506	9.5	19	1.589	8
	T		21.6	2.144	9.9	25.2	2.252	8	22.3	3.333	15	19	2.602	14
ΔL_R	NT	//	26.6	2.714	10	33	5.874	18	30.5	3.880	10	24.5	2.847	11.5
	T		30.5	5.70	19	38.4	5.127	13	29.2	4.652	16	24	2.565	10
	NT	⊥	26	0.713	3	31	1.414	4.5	32.2	3.055	9.5	23.4	1.375	6
	T		26.3	2.908	11	31.6	2.938	9	26.5	3.602	13	23.6	2.853	12
F	NT	//	3.2	0.350	10	1.6	0.564	33	2.8	0.673	23	2.4	0.299	12
	T		2.9	0.359	12	1.8	0.571	30	1.7	0.241	14	2	0.324	16
	NT	⊥	2.9	0.427	15	2.7	0.973	36	3.1	0.736	23	2.9	0.476	16
	T		3.3	0.462	14	2.7	0.834	30	2	0.597	29	3.4	0.774	22

Mélange				Mélange				Mélange				H.A.D.			
Lapin 5 :				Lapin 6 :				Lapin 7 :				Lapin 8 :			
$\bar{x}$	σ	C.V		$\bar{x}$	σ	C.V		$\bar{x}$	σ	C.V		$\bar{x}$	σ	C.V	
1.08	0.148	14		1.23	0.106	8.7		1.45	0.105	7		1.20			
1.20	0.092	7.7		1.45	0.165	11		1.82	0.135	7.5					
1	0	0		1.27	0.225	17.6		1.45	0.132	9		1	0.062	6	
1.2	0.095	8		1.50	0.145	9.5		1.81	0.153	8					
1297	403.4	31		902	279.48	31		1079	83.088	7		904	269.56	30	
1460	545.53	37		504	104.1	20		622	191.13	30					
1756	436	25		654	81.089	12		1107	161.58	13		1750	444.42	25	
1256	450.99	36		600	123.15	20.5		1185	309.75	26					
446	124.02	28		386	106.84	27		356	17.345	5		420	123.14	29	
468	124.69	26.5		194	40.63	21		218	85.345	39					
630	121.77	19		452	178.08	39		431	106.85	25		500	124.09	24	
441	77.498	17.5		229	71.79	31		384	120.01	31					
3.9	0.148	14		3.7	1.951	52		0.58	0.545	90		1	0.180	15	
3.2	0.928	29		5.5	1.374	25		0.72	0.373	51					
2.9	0.965	33		2.3	1.076	46		0.23	0.219	92		1.75	0.523	30	
3.2	1.134	35		3.6	1.082	29		0.86	0.471	54					
17.8	3.618	20		11.5	3.721	32		13	4.179	32		13.2	3.414	26	
15.4	2.094	13.5		15.5	1.905	12		14.3	2.808	19					
13.4	1.772	13		11.8	2.560	22		5.3	2.231	42		15.2	0.523	30	
12.6	1.092	8.6		13.2	1.633	12		12.3	2.156	17					
23.7	4.323	18		15.7	4.628	29		17.4	4.833	27		19.2	3.284	17	
20.4	2.277	11		20.2	2.076	10		16.8	2.657	15					
19.7	1.857	9		17.6	2.180	12		9.3	2.811	30		18	3.486	19	
18.3	1.153	6		16.8	2.257	13		15.7	2.431	15					
30.2	4.951	16		22.7	5.849	25.5		22.9	5.359	23		27	2.775	10	
27	2.525	9		28.5	3.291	11.5		21.7	2.421	11					
28.5	1.833	6		27.3	1.207	4		21.8	1.967	9		23	4.099	18	
26.7	1.079	4		23.1	2.560	11		21.2	3.023	14					
35.7	4.507	12.5		27	6.184	23		27.7	5.395	19		33	4.226	13	
32	2.559	8		31.6	2.785	8.7		25.5	2.627	10					
34.8	2.342	7		34.3	2.120	6		27.5	2.011	7		27	4.192	14	
32.5	1.468	4.5		26	3.404	13		26	3.248	12					
2.4	0.584	24		2.3	0.568	24		2.6	0.256	10		2.4	0.531	22	
2.8	0.677	37		1.4	0.216	15.5		1.9	0.704	36					
3.1	0.609	19		2.7	0.789	28		3.1	0.747	24		2.5	0.570	22	
2.6	0.543	20		1.6	0.414	26		3.4	1.019	31					



On peut dire que le mélange se comporte de manière plus nette, plus marquée et plus constante que la crème et l'huile d'amande.

4.9. Quatrième expérimentation :

4.9.1. Traitement statistique du lot n° 4 :

Ce lot comporte 12 lapins, de race albinos, de sexe mâle, de même poids (3,5k) traités par 4 produits différents qui sont :

X : insaponifiables de Soja dilués dans l'huile d'amande à parties égales.

B : insaponifiables de luzerne dilués dans les mêmes conditions.

M : "échappées de désodorisation" de Maïs.

A : "échappées de désodorisation d'Arachide".

Ce lot sera donc constitué de 4 classes de 3 lapins chacune. Nous allons donc avoir 3 sources de variations :

1. Les 4 classes aux étages X, B, M, A.
2. Le sens aux étages "parallèle" (//) et "perpendiculaire" (⊥) à l'échine.
3. Le traitement aux étages "traité" (T) et "non traité" (NT).

Remarques :

— Les différentes mesures ont été effectuées, pour un même lapin, sur 32 éprouvettes (4.224 essais), à savoir :

- . 16 éprouvettes prélevées sur la peau témoin (NT)
- . 16 éprouvettes prélevées sur la peau traitée (T)

Les deux zones NT - T figurent de part et d'autre de l'échine. Dans une même zone on prélèvera :

- . 8 éprouvettes dans le sens parallèle à l'échine
- . 8 éprouvettes dans le sens perpendiculaire à l'échine.

— Les tests effectués et étudiés statistiquement sont :

- . la force à la rupture F
- . l'allongement à la rupture ΔL_R
- . l'allongement à 1000 grammes
- . l'allongement à 100 grammes
- . l'allongement à 25 grammes
- . le module d'élasticité E.

Tableau 39 :
CARACTERISTIQUES STATISTIQUES DES VARIABLES :

Sens Produit	Variables	Parallèle			Perpendiculaire		
		Moyenne	Ecart-type	C.V %	Moyenne	Ecart-type	CV %
Aucun	X	13.5	2.877	21.3	11.4	2.986	26.1
	Y	1239.5	796.531	64.2	1347.2	786.522	58.3
	Z	29.0	4.193	14.4	27.6	5.091	18.4
	T	3.7	2.437	64.8	4.2	2.609	62.1
X	X	11.9	2.858	23.9	8.9	2.052	22.9
	Y	819	324.805	39.6	1654	1230.647	74.3
	Z	26.6	4.052	15.2	21.4	4.098	19.1
	T	3.3	1.478	44.8	5.1	3.401	65.9
B	X	16.4	3.008	18.3	11.9	2.425	20.2
	Y	1769.8	747.466	42.2	2095.9	1150.864	54.9
	Z	36.2	4.916	13.5	31.6	4.937	15.6
	T	5.7	2.698	46.9	7	4.909	69.3
M	X	14.4	3.740	25.8	10.7	2.355	21.9
	Y	420	217.600	51.7	583.0	305.221	52.3
	Z	30.6	5.230	17.0	22.0	4.201	18.4
	T	2.2	862	38.4	2.1	1.018	47.5
A	X	10.5	4.139	39.2	9.8	3.522	35.7
	Y	880.2	260.811	29.6	1539.2	476.464	30.9
	Z	22.6	5.657	24.9	20.5	4.380	21.2
	T	4.3	1.100	25.0	6.2	1.654	26.3

CV % : coefficient de variation
Y : Module d'élasticité

X : allongement à 25 g
T : force rupture.

Z : Allongement rupture

NB. Ces variables ont le même effectif : 24 données.

4.9.2. Analyse du plan factoriel : (Tableau 61)

L'analyse des résultats par une étude du plan factoriel au travers des variances de chaque distribution permettra de connaître les effets comparatifs des diverses sources de variations, c'est-à-dire si chacune des 4 sources choisies a bien une influence sur les valeurs trouvées et également si certaines interactions sont importantes.

En d'autres termes, connaître à un niveau de probabilité donné, si, par exemple, les résultats obtenus sont indépendants des classes, si l'effet constaté du produit est meilleur dans une classe donnée, si cet effet est gradué.

Pour traiter un tel problème nous rassemblerons les diverses valeurs au nombre de 384, pour chaque variable étudiée, dans un tableau de modèle 11 (48 cases).

Dans ce tableau initial nous trouverons dans chaque case 8 valeurs correspondant chacune à l'expérimentation relative sur 8 éprouvettes prises dans un sens déterminé par rapport à l'échine de l'animal et ayant ou non reçu un traitement.

De ce tableau général, nous établirons un tableau similaire indiquant aux lieux et places des 8 valeurs la somme des valeurs correspondant aux éprouvettes prélevées sur 3 lapins ayant reçu le même traitement dans un même sens et du côté traité ou non traité (tableaux 40 - 43 - 46 - 49 - 52 - 55)

Pour chacun des tableaux établis nous calculons la somme des carrés de chacun des termes qui y sont inscrits.

Les étapes suivantes consisteront à concentrer les divers étages des sources de variations pour réduire la grandeur des tableaux et éliminer ainsi une source de variation.

Par exemple, si on ajoute ensemble toutes les lignes correspondant à $T \parallel$ et $NT \parallel$, $T \perp$ et $NT \perp$ d'autre part, et ce pour chacune des 4 classes nous aurons un tableau à 8 cases (4 lignes et 4 colonnes), déterminant l'interaction côté-traitement sans tenir compte des différentes classes (tableaux 41 - 44 - 47 - 50 - 53 - 56).

Par la suite de la démonstration nous présenterons les diverses interactions du 1er et 2e ordre ainsi que les actions principales.

4.9.3. Etude des corrélations :

Ce test n'est pas un test de F, c'est un test sur la distribution des coefficients de corrélation.

La significativité de ce test s'exprime par une valeur de coefficient supérieure à 0.35 au seuil de probabilité de 5 %, par une valeur de coefficient supérieure à 0,45 au seuil de probabilité de 1 % (tableaux 58 - 59 - 60).

4.9.4. Interprétation :

- Module d'élasticité :

Tableau 61 : Analyse du plan factoriel

	A		B		C		A B		A C		B C		OBSERVATIONS			
	Traitement X.B.M.A.	FT DL 1% 3 3.9	Traité et Non Traité	FT DL 1% 1 3.9	Sens : parallèle perpendiculaire	FT DL 1% 3 3.9	A B	FT DL 1% 3 3.9	A C	FT DL 1% 3 3.9	B C	FT DL 1% 1 3.9	A	B	C	A B
Module d'élasticité	FC : 40.33		FC : 1.01		FC : 17	FC : 10.3		FC : 1.5		FC : 7.12			$B \gg X > A \geq M$		$1 > //$	BT > BNT XT > XNT AT > ANT MT < MNT
Force à la rupture	FC : 31.8		FC : 5.2		FC : 11.7	FC : 13.7		FC : 1.3		FC : 2.6			$B > X : A > M$	T > NT	$1 > //$	BT > BNT XT > XNT AT > ANT MT < MNT
Allongement à la rupture	FC : 38.9		FC : 14.2		FC : 43.7	FC : 29.8		FC : 2.27		FC : 14.1			$B > M > A > X$	NT > T	$// > 1$	BT > BNT MT : MNT AT < ANT XT < XNT
Allongement à 1000 g	FC : 27.1		FC : 13.5		FC : 55.6	FC : 38		FC : 1.78		FC : 8.84			$B > M > A > X$	NT > T	$// > > 1$	BT > BNT MT > MNT AT < ANT XT < XNT
Allongement à 100 g	FC : 21.5		FC : 20.3		FC : 96.7	FC : 21.9		FC : 1.2		FC : 2.3			$B > M > A > X$	NT > T	$// > 1$	BT > BNT MT : MNT AT < ANT XT < XNT
Allongement à 25 g	FC : 15		FC : 3.98		FC : 70.5	FC : 13.6		FC : 0.75		FC : 2.1			$B > M > A > X$	NT : T	$// > 1$	BT > BNT MT > MNT AT < ANT XT < XNT

MODULE D'ELASTICITE :

		X	B	M	A
T	//	819	1770	420	880
	⊥	1654	2096	583	1539
NT	//	1160	1887	1178	732
	⊥	1284	1895	1283	926

Tableau 40 : interaction ABC

A – Effet traitement : X : 911
B : 946
M : 615
A : 415

C – Effet sens : // : 1100
⊥ : 1400

	X	B	M	A
T	1237	1933	501	1209
NT	1223	1891	1230	1659

Tableau 41 : interaction AÆ

	X	B	M	A
//	989	1829	799	806
⊥	1469	1995	933	1233

Tableau 42 : interaction AC

FORCE A LA RUPTURE :

Tableau 43 interaction ABC

		X	B	M	A
D	//	3.3	5.7	2.2	4.4
	⊥	5	7	2.1	6.2
G	//	3.4	5.9	3.6	2.1
	⊥	3.9	6.2	3.9	2.8

A – Effet traitement : X : 3.9
(Niveau 4) B : 6.2
M : 3
A : 3.9

B – Effet traitement NT : 3.9
(Niveau 2) T : 4.5

C – Effet sens // : 3,8
⊥ : 4.7

Tableau 44 interaction AB

	X	B	M	A
D	4.2	6.4	2.2	5.3
G	3.6	6	3.7	2.5

Tableau 45: interaction AC

	X	B	M	A
//	3.3	5.8	3	3.2
⊥	4.5	6.6	3	4.5

ALLONGEMENT A 25 G :

Tableau 46 : Interaction ABC

		X	B	M	A
D	//	12	16.4	14.5	10.5
	⊥	8.9	12	10.7	9.8
G	//	11.7	13.3	13.2	15.6
	⊥	10.3	12.6	10.5	12.2

A : Effet traitement : X : 10.7
B : 13.6
M : 12.2

C : Effet sens // : 13.4
⊥ : 10.8

Tableau 47 : Interaction AB

	X	B	M	A
D	10.5	14.2	12.6	11
G	11	12.9	10.2	14

Tableau 48 : Interaction AC

	X	B	M	A
//	11.8	14.8	13.8	13
⊥	9.6	12.3	10.6	11

ALLONGEMENT A 100 G :

Tableau 49 : Interaction ABC

		X	B	M	A
D	//	15.2	21.8	17.7	12.5
	⊥	11	15.7	13.2	11.8
G	//	16.2	17	17.8	19.9
	⊥	13.6	16.4	13.9	15.8

A : Effet traitement : X : 14
B : 17.7
M : 15.6
A : 15

C : effet sens : // : 17.3
⊥ : 13.9

Tableau 50 : Interaction AB

	X	B	M	A
D	13	18.7	15.4	12.1
G	14.9	16.7	15.9	17.8

Tableau 51 : Interaction AC

	X	B	M	A
//	15.7	19.5	17.8	16.2
⊥	12.3	16	13.5	13.8

ALLONGEMENT A 1000 G :

Tableau 52 : Interaction ABC :

		X	B	M	A
D	//	21.4	29.7	26.7	16.3
	⊥	16.3	24	19.6	15.2
G	//	22	22.7	24	26.6
	⊥	19.7	23	21	23

A : Effet traitement : X : 19.8
B : 24.9
M : 22.9
A : 20.3

C : Effet sens : // : 23.7
⊥ : 20.3

Tableau 53: interaction AB

	X	B	M	A
D	18.8	27	23.2	15.7
G	20.8	22.9	22.6	25

Tableau 54 : interaction AC

	X	B	M	A
//	21.7	26.2	25.3	21.5
⊥	18	23.6	20.4	19.2

ALLONGEMENT A LA RUPTURE :

Tableau 55 : Interaction ABC :

		X	B	M	A
D	//	26.6	36.2	30.6	22.6
	⊥	20.3	31.6	22.8	20.6
G	//	26.8	28.7	29	31.3
	⊥	25.6	30	26.8	28

A : Effet traitement : X : 25
B : 31.6
M : 27.3
A : 25.7

C : Effet sens : // : 29
⊥ : 25.9

Tableau 56 : Interaction AB

	X	B	M	A
D	23.9	33.9	26.7	22.6
G	26.2	29.4	27.9	29.7

Tableau 57 : Interaction AC :

	X	B	M	A
//	26.7	32.5	29.8	27
⊥	23.5	30.8	24.8	24.4

Tableau 58
CORRELATIONS :

Sens //		Allongement 25 g	Module d'élasticité	Allongement rupture	Force rupture
Allongement 25 g	X		- 0.132 NS	0.674 HS	- 0.129 NS
	B		- 0.145 NS	0.547 HS	0.0348 NS
	M		- 0.445 HS	0.581 HS	0.373 S
	A		- 0.307 NS	0.915 HS	0.508 HS
	NT		- 0.241	0.600	- 0.268
Module d'élasticité	X			- 0.355 NS	0.805 HS
	B			- 0.530 HS	0.831 HS
	M			- 0.099 NS	0.882 HS
	A			0.272 NS	0.584 HS
	NT			0.154	0.931
Allongement Rupture	X				- 0.219 NS
	B				0.480 S
	M				0.462 S
	A				0.594 HS
	NT				0.099
Force rupture					

Tableau 59
CORRELATIONS :

Sens ⊥		Allongement 25 g	Module d'élasticité	Allongement rupture	Force rupture
Allongement 25 g	X		0.157 NS	0,586 HS	0,092 NS
	B		-0,387 NS	0,417 HS	-0,407 NS
	M		0,334 NS	0,626 HS	-0,116 NS
	A		0,500 HS	0,887 HS	0,490 S
	NT		- 0,266	0,770	- 0,112
Module d'élasticité	X			- 0,410 NS	0,975 HS
	B			- 0,234 NS	0,955 HS
	M			- 0,114 NS	0,816 HS
	A			0,443 HS	0,857 HS
	NT			- 0,048	0,948
Allongement rupture	X				- 0,445 NS
	B				- 0,234 NS
	M				0,204 NS
	A				0,585 HS
	NT				0,065
Force rupture					

TABLEAU 60 :

Matrice des corrélations :
(matrice 4 * 4).

Produits	Paramètres	X	Y	Z	T
// aucun ⊥	X	1.000			
	Y	-.241	1.000		
	Z	.600 & 01	.154	1.000	
	T	-.268	.931	.099	1.000
// X ⊥	X	1.000			
	Y	-.166	1.000		
	Z	.770	-.048	1.000	
	T	-.112	.948 & 01	.648	1.000
// B ⊥	X	1.000			
	Y	-.132	1.000		
	Z	.674	-.355	1.000	
	T	-.129	.805	-.129	1.000
// M ⊥	X	1.000			
	Y	.157	1.000		
	Z	.586	-.410	1.000	
	T	.092	.975	-.445	1.000
// A ⊥	X	1.000			
	Y	-.145	1.000		
	Z	.547	-.530	1.000	
	T & 01	.348	.831	.480	1.000
// M ⊥	X	1.000			
	Y	-.387	1.000		
	Z	.417	-.234	1.000	
	T	-.407	.955	-.234	1.000
// A ⊥	X	1.000			
	Y	.445	1.000		
	Z	.581	-.099	1.000	
	T	.373	.882 & 01	.462	1.000
// A ⊥	X	1.000			
	Y	.334	1.000		
	Z	.626	-.114	1.000	
	T	-.116	.816	.204	1.000
// A ⊥	X	1.000			
	Y	.307	1.000		
	Z	.915	.272	1.000	
	T	.508	.584	.594	1.000
// A ⊥	X	1.000			
	Y	.500	1.000		
	Z	.887	.443	1.000	
	T	.490	.857	.585	1.000

– On peut constater que certains facteurs sont plus significatifs que d'autres, ce qui permet d'opérer une hiérarchisation des facteurs concernés :

. pour le traitement :

$$B \gg X > A \geq M$$

. pour le côté :

$$T > NT$$

. pour le sens :

$$\perp \gg //$$

– Pour les interactions de 1er ordre, l'interaction - traitement/côté est particulièrement intéressante.

Ainsi on peut écrire :

$$A_T < A_{NT}$$

$$B_T \geq B_{NT}$$

$$X_T \geq X_{NT}$$

$$M_T < M_{NT}$$

– Enfin pour l'interaction traitement/sens il semble que l'on ait toujours :

$$\perp > //$$

Nous pensons d'ores et déjà remarquer que des produits n'agissent pas de la même manière c'est-à-dire :

- . ils sont pratiquement sans action significative pour X et B
- . ils ont une action significative sur le module pour M et A
- force à la rupture.

– L'étude de ce paramètre a fourni de nombreux résultats significatifs :

. pour le traitement :

$$B > X : A > M$$

. pour le côté :

$$T > NT.$$

. pour le sens :

$$\perp \gg //$$

– D'Une façon générale la force à la rupture augmente pour X, B et A et diminue pour M.

Le produit M aurait-il dégradé les fibres de collagène ? Ce résultat rejoindrait ceux fournis par l'étude de la tolérance cutanée.

• Allongement à la rupture :

Ici un produit se détache nettement du lot. Il s'agit du produit B. Il est le seul pour lequel ce paramètre donne des résultats positifs significatifs entre le côté témoin et le côté traité.

• Allongement à 1000 G :

Nous avons toujours :

$$B > M > A > X.$$

Là encore, seul B donne des résultats positifs. L'interaction de 2ème ordre traitement/côté montre :

$$B_T \gg B_{NT}$$

$$M_T > M_{NT}$$

$$X_T < X_{NT}$$

$$A_T < A_{NT}$$

• Allongement à 100 g :

Le produit B se distingue du lot par un effet positif :

. au niveau interaction de 1er ordre :

$$B \gg M > A > X$$

. au niveau interaction traitement / côté :

$$B_T \gg B_{NT}$$

$$M_T : M_{NT}$$

$$X_T \leq X_{NT}$$

$$A_T < A_{NT}$$

• Allongement à 25 g :

Le produit B se détache nettement du lot par un effet significatif :

. au niveau interaction de 1er ordre :

$$B > M > A > X$$

. Au niveau interaction de 2ème ordre, traitement/côté :

$$B_T > B_{NT}$$

$$X_T : X_{NT}$$

$$M_T > M_{NT}$$

$$A_T < A_{NT}$$

4.9.5. Conclusion :

Nous pouvons donc dire que, par cette étude, une graduation des effets des produits est aisée à percevoir sur les divers paramètres.

— les produits sont sans effet sur le module d'élasticité, donc sur la fibre de collagène elle-même, exception faite du produit M pour lequel nous nous réservons en regard de l'intolérance qu'il produit sur la peau des lapins.

Pour M, le module d'élasticité et la force à la rupture sont diminués de façon sensible par les traitement.

— Les produits ont un effet significatif sur les allongements aux faibles contraintes, paramètres auxquels nous nous sommes particulièrement attachés au cours de cette étude, et pour les raisons que nous avons déjà mentionnées.

La significativité est excellente pour les bas allongements et devient limite à mesure que l'on se rapproche des fortes contraintes.

— Enfin, la force à la rupture présente une bonne corrélation avec le module d'élasticité. Ces deux paramètres varient dans le même sens.

La force à la rupture, donc la résistance du matériaux, diminue nettement pour le produit M et augmente de manière progressive de A à X et à B.

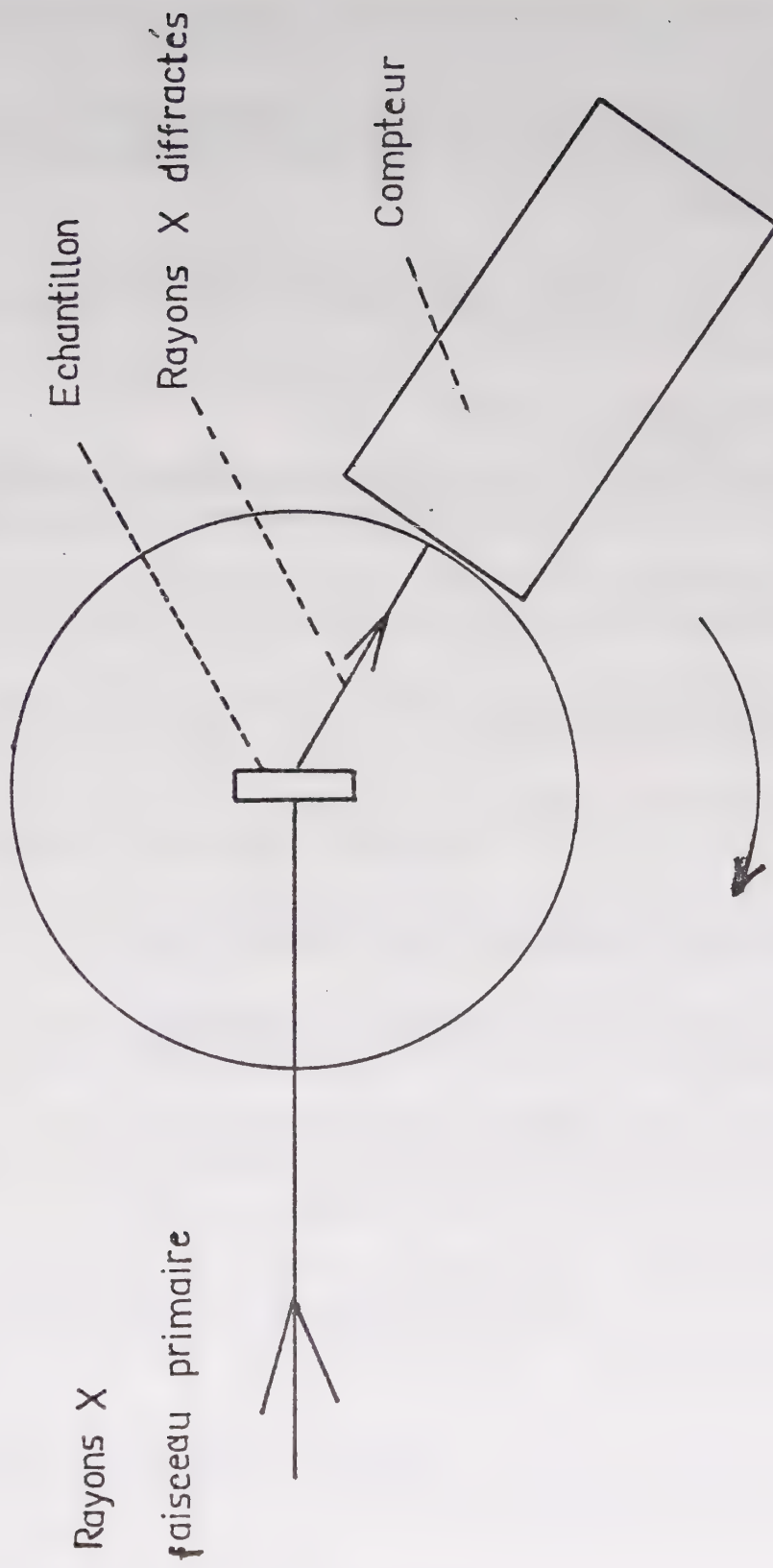
On peut donc s'apercevoir si un produit traite bien ou mal :

. Un bon produit augmentera les allongements sans modifier le module d'élasticité, la force à la rupture et la résistance.

. Un produit inefficace ne modifiera aucun des paramètres mécaniques de la peau.

. Un mauvais produit diminuera le module d'élasticité, la force et la résistance à la rupture parce qu'il aura dégradé la fibre elle-même.

fig 23 : SCHEMA DE L'APPAREIL DE DIFFRACTION



5. Analyse par diffraction aux rayons X :

5.1. But de la méthode :

Nous avons réalisé cette étude sur des échantillons provenant des peaux de lapins des lots n° 3 et 4.

Cette méthode permettra éventuellement d'établir l'effet de l'application des produits sur les fibres de collagène par mesure de l'orientation, de l'arrangement ou de la structuration de ces fibres dans la peau.

De plus, en analysant le diagramme de diffraction des rayons X, des échantillons, étudiés, il sera possible de savoir, de manière sûre et définitive, si les fibres de collagène possèdent ou non une orientation préférentielle.

5.2. La méthode (119-153-154-155) :

Pour l'examen, la peau est rasée de près, débarrassée du tissu sous-cutané et placée entre deux toiles inox rigides afin de la maintenir très plate au cours du séchage.

Le conditionnement est réalisé dans la pièce climatisée où se trouve le diffractomètre afin que l'échantillon n'évolue pas au cours de l'analyse. Chaque essai dure 14 heures.

L'échantillon est placé au centre d'un goniomètre CGR de telle manière que son plan soit perpendiculaire au faisceau primaire de rayons X produit par un tube à foyer fin CGR (fig. 23).

Le diagramme de diffraction est enregistré pour plusieurs positions de l'échantillon, obtenus par rotation de cet échantillon dans le plan perpendiculaire au faisceau incident des rayons X.

Les intensités diffractées sont enregistrées dans le plan équatorial par un compteur proportionnel monté sur le goniomètre et dont la rotation est assurée par un moteur pas à pas.

L'orientation des fibres de collagène est déterminée en suivant la variation de la surface des pics de diffraction en fonction de la position angulaire de l'échantillon dans son plan.

En effet, pour des fibres de collagène bien orientées et placées verticalement dans le plan perpendiculaire au faisceau incident, on obtient une série de tâches de diffraction caractéristiques de la structure en triple hélice du collagène (fig. 24).

Quand les fibres sont réparties dans toutes les directions du plan, les tâches donnent naissance à des cercles de diffraction. On enregistre grâce au goniomètre une courbe résultant de l'intersection de ces cercles avec le plan équatorial, chaque cercle donnant naissance à un pic d'intensité détecté par le compteur.

On obtient en particulier les pics P_1 et P_2 dont les surfaces sont directement proportionnelles aux quantités de substance qui les ont produites, c'est-à-dire aux quantités de molécules hélicoïdales présentes dans le tissu (fig. 25).

— Quand on envoie un faisceau sur des fibres parfaitement orientées dans un sens perpendiculaire au plan équatorial : on enregistre un pic P_1 maximum et un pic P_2 nul.

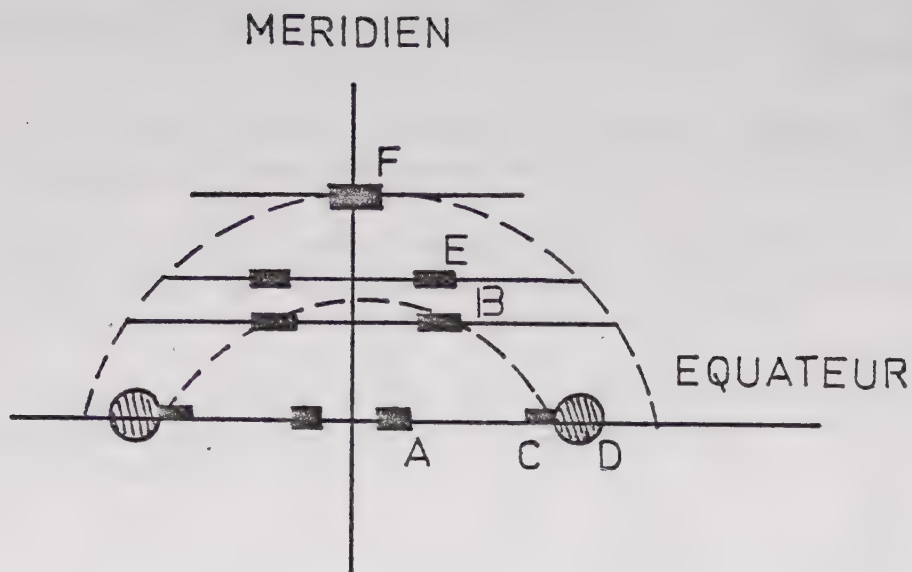


fig 24

A et C $\longrightarrow$ réseau de fibrilles

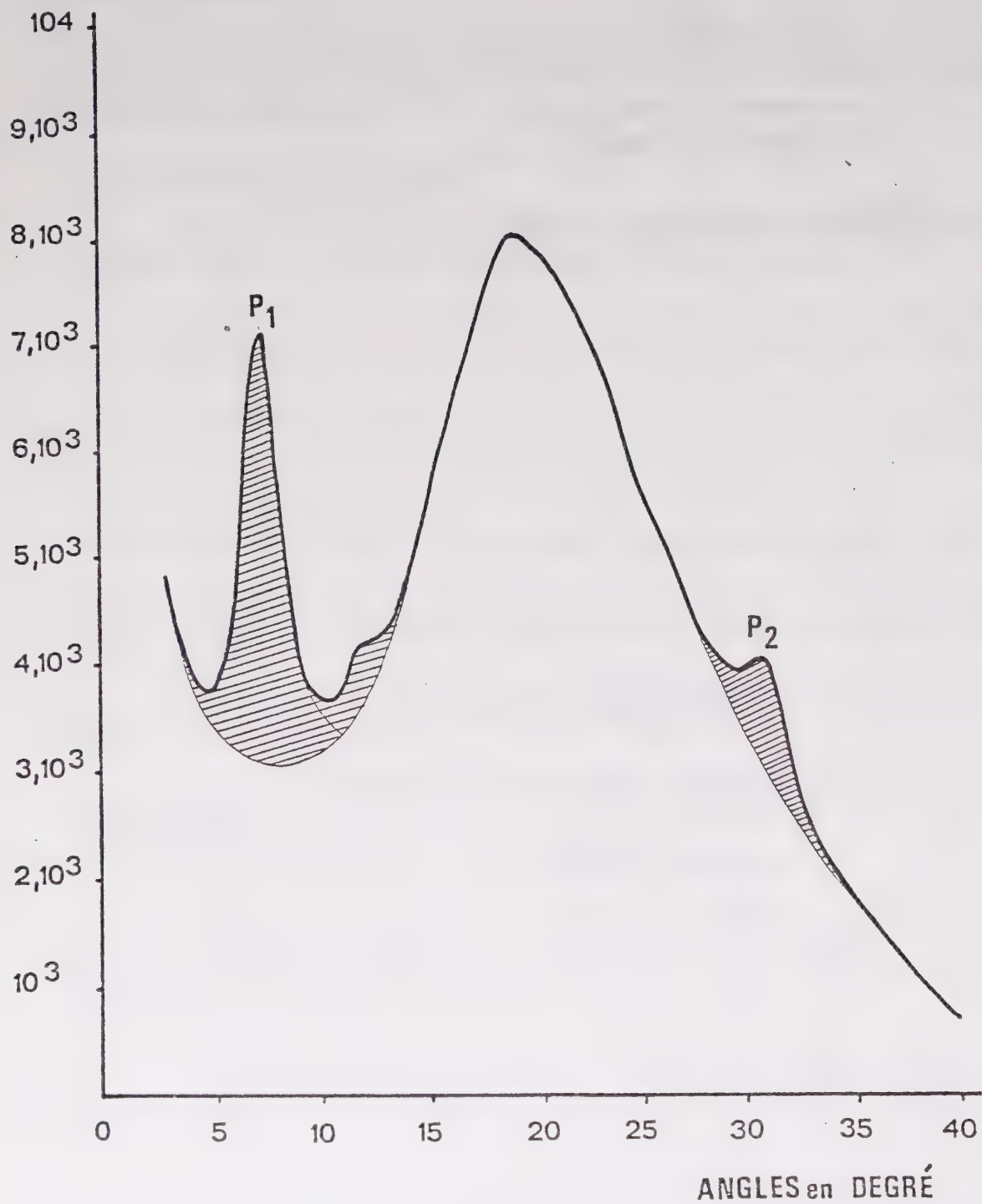
B $\longrightarrow$ pas de l'hélice

E et D $\longrightarrow$ partie amorphe + distance interchaîne
dans la triple hélice

F $\longrightarrow$ hauteur séparant 2 résidus
d'acides aminés

fig 25 PIC D'INTENSITE

INTENSITÉ DIFFRACTÉE
EN COUPS/10 mn



— Inversement, quand le faisceau est parallèle au plan équatorial on enregistre un pic P_1 nul et un pic P_2 maximum. (Ceci pour autant que la quantité de matière touchée par le faisceau n'évolue pas au cours de la rotation).

Plusieurs cas peuvent se présenter :

1. Un échantillon de tissu collagénique dont les fibres sont complètement désorientées donnera des pics dont les surfaces ne seront pas modifiées par une rotation coplanaire de l'échantillon.
2. Un tissu dans lequel les fibres sont partiellement orientées donnera naissance à des pics de diffraction dont les surfaces évolueront en fonction des positions angulaires de l'échantillon.

Dans le but de déterminer le degré d'orientation des fibres il sera nécessaire d'enregistrer des diagrammes de diffraction dans différentes positions coplanaires de l'échantillon. (Le plan de l'échantillon étant perpendiculaire au faisceau primaire des rayons X).

La direction préférentielle des fibres sera déterminée en suivant, en fonction de la position angulaire de l'échantillon, l'évolution du rapport des surfaces des deux pics, l'un méridien (P_2) l'autre équatorial (P_1).

La connaissance de l'évolution de la surface d'un seul pic n'est pas suffisante pour mettre en évidence l'orientation des fibres, étant donné que cette évolution est due à deux facteurs : d'une part à l'orientation des fibres, d'autre part à la quantité de matière touchée par le faisceau primaire de rayons X.

La constante du rapport $\frac{P_1}{P_2}$ indiquera une désorientation complète des fibres ; au contraire, sa variation indiquera une orientation préférentielle.

Dans ce derniers cas, la position du maximum ou du minimum donnera l'angle de la direction préférentielle.

L'importance de la variation du rapport permettra de mesurer le degré d'orientation.

5.3. Résultats :

5.3.1. Degré d'orientation (fig 26) :

Sur un graphe, si nous portons en abscisse l'angle fait par l'échantillon avec le plan du goniomètre, et, en ordonnée, la valeur du rapport $\frac{P_1}{P_2}$ on obtient des courbes que nous assimilerons à des droites (fig 26).

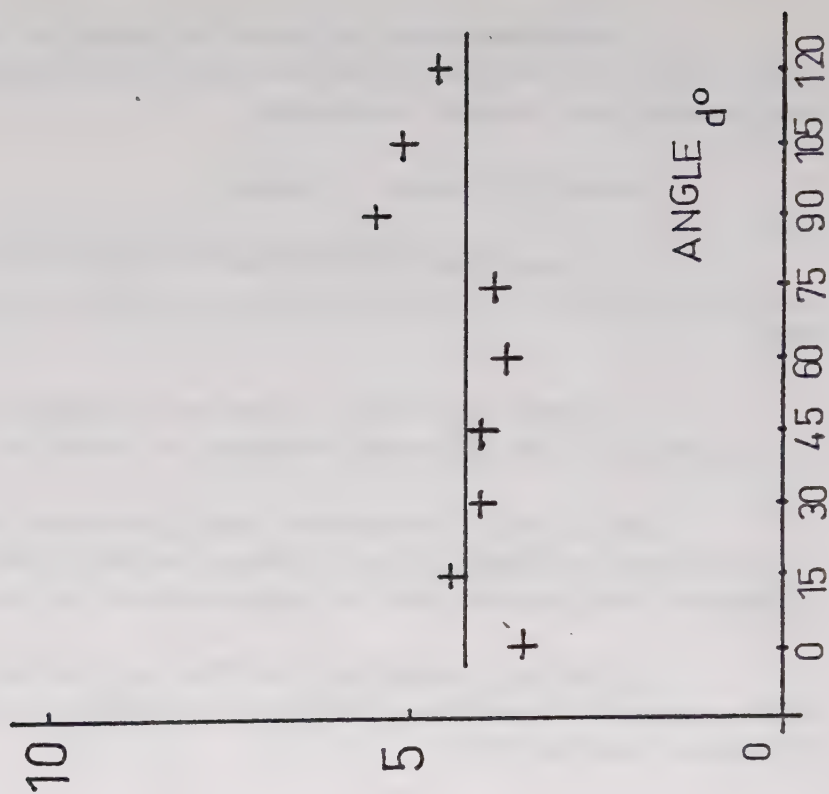
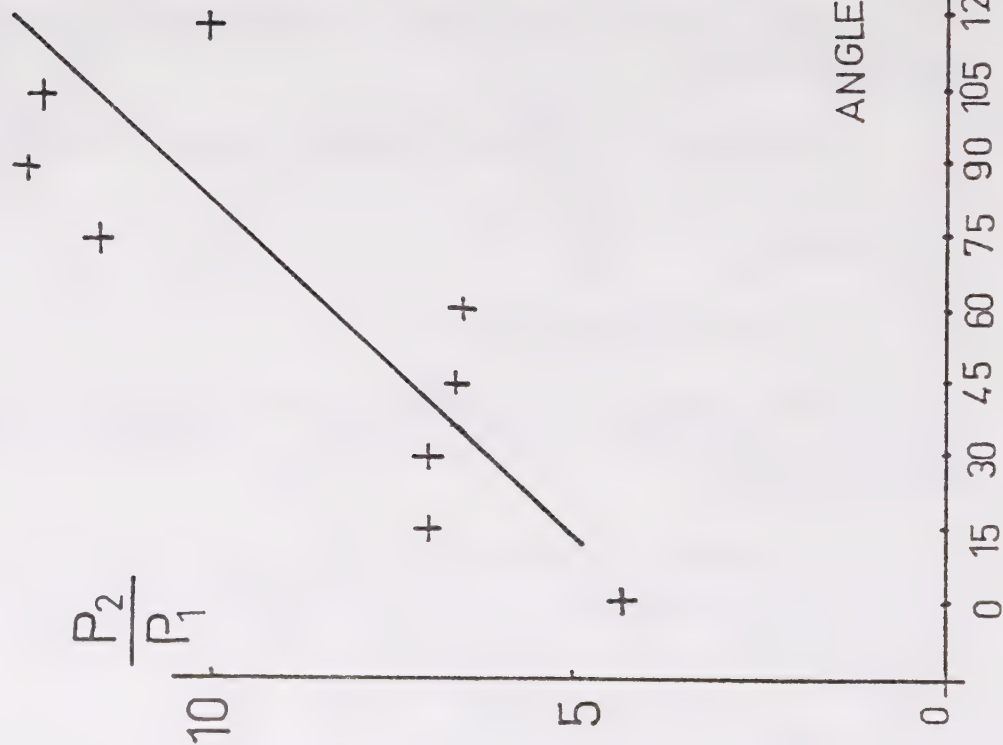
L'orientation sera fonction de la pente de la droite, et nous aurons :

Lapins	NT	T
6	0	1.05
5	0.03	0.68
2	0	0.90

fig 26 , LAPIN 6 : RAYONS X

COTE TRAITE

COTE TEMOIN



5.3.2. Angle d'orientation (fig 27) :

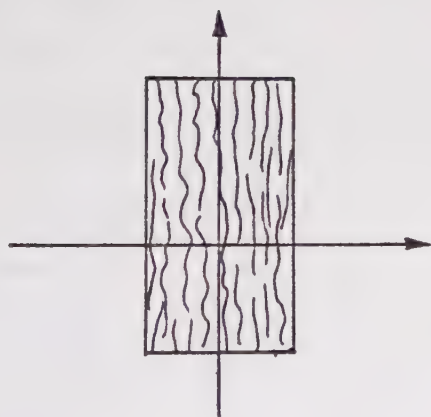
Lapins	Traitement	NT	T
2	Mélange	0°	60°
6	Mélange	0°	90°
5	Crème	0°	60°
3	Crème	0°	60°

Dans les peaux non traitées, les fibres sont orientées dans toutes les directions du plan (pas d'orientation préférentielle). Il faut rappeler que les analyses ont été faites sur des lapins relativement jeunes, pesant entre 1 kg 800 et 2 kg, et l'on sait que dans une peau jeune, les fibres de collagène forment un réseau très enchevêtré.

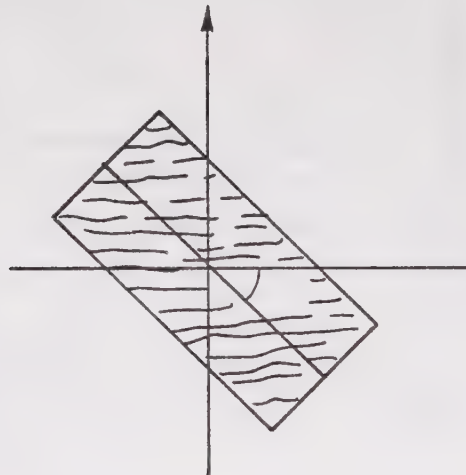
Par contre, dans les peaux traitées, les fibres s'orientent préférentiellement à 60° et 90° par rapport au plan du goniomètre.

On peut donc dire que :

- A 90° les fibres sont parallèles à l'échine
- A 60° les fibres sont orientées plutôt perpendiculairement à l'échine, cas le plus fréquent.



A 90°



A 60°

Ces résultats rejoignent ceux obtenus par la méthode rhéologique.

5.3.3. Degré de structuration :

Il peut être déterminé en calculant la valeur moyenne du rapport de l'intensité du pic P_1 sur l'intensité du fond continu, pour chaque angle et en fonction de tous les angles de 0 à 90°.

fig. 27 ORIENTATION DES FIBRES DE COLLAGENE

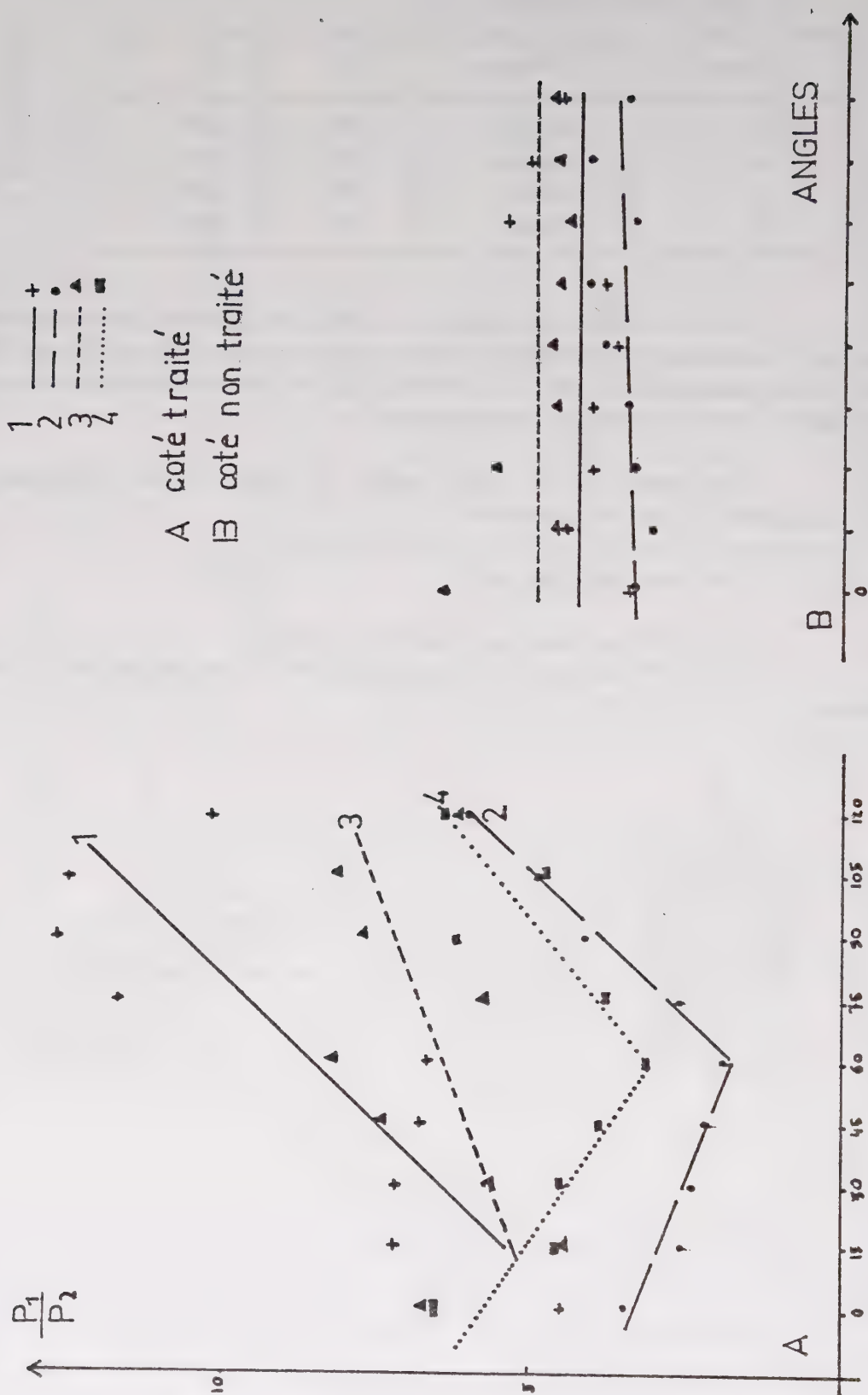


TABLEAU 62 : DEGRE DE STRUCTURATION : (RESULTATS STATISTIQUES)

1 – Traitement : Mélange - Lapin Femelle
Cette fonction compare deux séries de faible effectif.

0 : 2.56 2.58 2.77 2.51 2.33 2.14 2.34

0 : 2.77 2.53 2.53 3.46 6.39 2.68 5.43

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
2.4614 ± 0.168

Moyenne de B
3.6843 ± 1.287

Sigma de A
0.20684

Sigma de B
1.5773

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
0.58107 2.18 : NS

2 – Traitement : Mélange - Lapin Femelle

0 : 1.23 2.13 2.38 2.21 2.17 2.27 2.39

0 : 1.93 2.16 2.32 2.39 2.34 2.63 1.49

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
2.1114 ± 0.327

Moyenne de B
2.18 ± 0.303

Sigma de A
0.4011

Sigma de B
0.37211

Degré de Liberté
12

T calculé T 5 %
0.094741 2.18 : NS

3 – Traitement : Insaponifiables de Soja - Lapin Mâle

0 : 1.78 1.76 1.8 1.8 1.79 1.74 2

0 : 2.18 2.26 2.30 2.62 2.55 2.7 2.37

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
1.81 ± 0.065

Moyenne de B
2.4257 ± 0.160

Sigma de A
0.086603

Sigma de B
0.19798

Degré de Liberté
12

T Calculé T 5 %
2.1539 2.18 : NS

4 – Traitement : crème à 10 % de mélange - Lapin Femelle

0 : 2.06 2.08 2.03 2.08 2.27 2.21 2.38

0 : 2.62 2.32 2.41 2.27 2.25 2.26 2.58

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
2.1586 ± 0.106

Moyenne de B
2.3871 ± 0.126

Sigma de A
0.13082

Sigma de B
0.15553

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
0.85016 2.18 : NS

1 – Traitement : Mélange Lapin Femelle
Cette fonction compare deux séries de faible effectif.

0 : 0.196 0.21 0.221 0.235 0.214 0.237 0.235

0 : 0.177 0.177 0.187 0.183 0.149 0.156 0.147

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
0.22114 ± 0.012

Moyenne de B
0.168 ± 0.013

Sigma de A
0.015507

Sigma de B
0.016803

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
1.7569 2.18 : NS

2 – Mélange - Lapin Femelle

0 : 0.248 0.185 0.245 0.246 0.221 0.231 0.213

0 : 0.187 0.127 0.183 0.187 0.16 0.106 0.154

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
0.227 ± 0.017

Moyenne de B
0.15771 ± 0.025

Sigma de A
0.022869

Sigma de B
0.0316

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
1.3427 2.18 : NS

3 – Insaponifiables de Soja : Lapin - Mâle

0 : 0.149 0.068 0.146 0.084 0.094 0.112 0.07

0 : 0.079 0.057 0.072 0.06 0.072 0.072 0.093 0.088

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
0.10329 ± 0.026

Moyenne de B
0.074429 ± 0.010

Sigma de A
0.033669

Sigma de B
0.013377

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
0.60212 2.18 : NS

4 – Crème - Lapin Femelle

0 : 0.221 0.208 0.219 0.208 0.196 0.086 0.145

0 : 0.184 0.192 0.187 0.252 0.246 0.240 0.229

Effectif de A (NT)

7
Effectif de B (T)

7
Moyenne de A
0.18329

Moyenne de B
0.21857

Sigma de A
0.050019

Sigma de B
0.029821

Degré de liberté
12

T calculé T 5 %
0.45804 2.18 : NS

On ne tient pas compte de la surface des pics car celle-ci est le fait non seulement de la quantité de structure hélicoïdale mais aussi de la quantité de matière que traverse le faisceau, c'est pourquoi on calcule l'intensité du pic sur l'intensité du fond, valeurs qui sont toutes deux fonctions de la quantité de matière présente dans le tissu.

On peut ainsi comparer deux peaux qui ont des épaisseurs différentes.

Pour comparer deux peaux, on fait la moyenne des valeurs calculées de 0 à 90° pour éliminer l'influence de l'orientation des fibres.

Prenons un exemple :

soit deux peaux A et B

A : les fibres sont complètement orientées

B : les fibres sont au contraire désorientées

Admettons que ces deux peaux ont le même degré de structuration. Cependant on a :

A : P_1 maximum

B : P_1 minimum

Cette différence d'intensité de pic est, elle, due à l'orientation. A présent en faisant la moyenne des valeurs intensités P_1 sur intensité du fond, et cela de 0 à 90° on se ramène dans le cas du cercle de diffraction provenant d'une peau dans laquelle les fibres sont complètement désorientées.

Dans notre cas, s'il n'y a aucune différence dans le degré de structuration entre une peau traitée et une peau non traitée, cela voudra dire qu'aucune dégradation n'a affecté les fibres de collagène.

— Résultats :

Les résultats figurant dans le tableau 62 .

Le test de STUDENT effectué sur cette série est non significatif dans tous les cas.

Le degré de structuration est égal entre les peaux témoins et les peaux traitées.

Il n'y a donc pas eu modification de structure, ou dégradation des fibres de collagène .

DISCUSSION

Les insaponifiables et les "échappées de désodorisation étudiés agissent positivement sur l'élasticité cutanée.

La méthode rhéologique et l'analyse par diffraction aux rayons X amènent toutes deux des résultats concordant.

Nous avons vu que les produits testés agissent au niveau de la phase la plus proche de la phase élastique, qu'ils agissent pendant la phase d'orientation des fibres.

De plus, quand la peau est traitée, les fibres collagéniques présentent une orientation préférentielle ; par contre, dans les peaux témoins, les fibres sont complètement désorientées.

Il semble donc que l'activité se situe au niveau des fibrilles nouvellement formées qui s'orientent alors plus facilement.

Ainsi, on peut affirmer, que les produits étudiés ne dégradent pas les fibres collagéniques mais qu'ils produisent tout de même certaines modifications.

S'agirait-il d'une modification du métabolisme du collagène ?

Pour affirmer cela, il sera nécessaire d'entreprendre une étude ultrastructurale et biochimique.

Des dosages d'hydroxyproline et la connaissance de l'évolution des propriétés biochimiques des macromolécules de la peau traitée sont indispensables.

En conclusion, il faut dire qu'une telle expérimentation, très longue, requiert beaucoup de minutie, de dextérité au cours des manipulations.

Elle nécessite un nombre d'essais très important (nous en avons réalisés 1099) sur des animaux tous identiques, au point de vue âge, sexe et poids, et soigneusement sélectionnés.

L'application d'un traitement doit être faite de manière constante et rigoureuse, en surveillant l'évolution pondérale des animaux.

Une étude statistique est indispensable, d'autant plus que les effets constatés ne peuvent être que faibles et soumis, de plus, à l'interférence de toutes les variations individuelles.

Un plan expérimental est primordial pour le choix des animaux, du nombre des animaux et pour le prélèvement des éprouvettes.

En effet, nous avons au cours de cette étude évaluer l'activité des insaponifiables et des

“échappées de désodorisation” sur des lapins ayant servi à la détermination des différents indices d'irritation cutanée.

Nous avons donc pas choisi au départ le nombre des animaux, la durée du traitement, le côté de la peau traitée.

Par ailleurs, l'étude par diffraction aux rayons X a été menée à la fin de ce travail.

Nous pouvons, de ce fait, conclure que, non seulement l'étude aux rayons X est indispensable mais qu'elle serait plus profitable si elle précède l'étude rhéologique.

En effet, déterminant l'orientation des fibres de collagène dans la peau cette méthode permettra de définir le sens et la position du prélèvement des éprouvettes.

En outre, pour compléter l'étude rhéologique il serait important de connaître la véritable phase élastique de la peau en réalisant des cycles d'hystérèse.

De plus, des essais bidimensionnels permettraient d'éliminer l'interférence du sens des éprouvettes et de l'orientation préférentielle des fibres de collagène.

Non seulement, on peut maintenant affirmer l'effet objectif sur l'élasticité cutanée des insaponifiables des huiles végétales et des “échappées de désodorisation” mais surtout, cette nouvelle méthode développée dans notre travail pourra permettre l'appréciation objective de certains effets dermocosmétiques sur la peau.

En outre, cette méthode semble devoir être applicable dans d'autres domaines (Elasticité du CHEVEU) et doit pouvoir contribuer à une meilleure connaissance des mécanismes de l'apparition des RIDES (déformation rémanente de la peau sans destruction du réseau des fibres de collagène) et des VERGETURES (déformation rémanente de la peau avec destruction du réseau des fibres de collagène), et d'une façon plus générale du VIEILLISSEMENT CUTANE.

CONCLUSIONS

Depuis quelques années, les insaponifiables (constituants non glycéridiques) de certaines huiles végétales sont présentés comme doués de propriétés dermatologiques, s'exerçant sur la biomécanique cutanée : effet assouplissant sur des peaux rêches et hyperkératosiques.

On utilise des insaponifiables très purs, dispersés, dans des préparations cosmétologiques diverses.

Ces constituants du fait de leur purification sont d'un prix relativement élevé. En outre, il n'existe pas à notre connaissance de travaux permettant d'objectiver l'action locale des préparations qui en contiennent.

Notre travail a porté sur les possibilités d'utilisation de fractions non glycéridiques d'huiles végétales, concentrées en insaponifiables, sous produits de la purification des huiles alimentaires. Comme il s'agit de sous produits (appelés : "échappées de désodorisation") leur composition n'est pas fixe et ils ne peuvent se prêter en l'état à une formulation cosmétique acceptable.

Par ailleurs, les procédés de purification relativement agressifs peuvent être générateurs d'une certaine intolérance.

En conséquence, en vue de valoriser ces sous produits, nous avons étudié :

- la composition chimique et le contrôle de ces "échappées de désodorisation".
- la formulation galénique d'une base dermocosmétologique technologiquement acceptable.
- la tolérance de ces bases.
- l'activité sur l'élasticité cutanée.

1) Les "échappées de désodorisation" contiennent en moyenne 30 % d'insaponifiables représentés par des stérols, des tocophérols, des alcools triterpéniques et des hydrocarbures.

Le reste est constitué de glycérides et d'acides gras libres plus ou moins modifiés.

Nous avons fixé les limites de concentrations des différents constituants insaponifiables ainsi que les différents indices afin de disposer de monographies analytiques précises (cahier des charges) correspondant aux "échappées de désodorisation" des huiles d'Arachide, Maïs et Soja.

2) Sur le plan technologique, les "échappées de désodorisation" ne sont pas utilisables telles quelles du fait de leurs caractères organoléptiques (en particulier : couleur et odeur) et de l'hétérogénéité de leur structure apparente.

Nous avons pu réaliser deux bases cosmétiques acceptables par dispersion à parties égales dans de l'Isostéarate d'isostéaryle ou de Néobee M5 (fraction tri-glycéridique d'huile de coco reconstituée).

Ces bases contiennent donc en moyenne 15 % d'insaponifiables et sont utilisés à raison de 10 % (soit 1,5 % d'insaponifiables) dans des préparations cosmétologiques diverses, crèmes et laits.

3) Nous avons appliqué les tests de tolérance suivant les techniques officielles : irritation cutanée primaire, irritation oculaire, test itératif.

Nous avons été amenés à apporter certaines modifications dans le protocole et l'interprétation de quelques unes de ces techniques.

Les bases cosmétiques que nous avons réalisées par dilution à 50 % des "échappées de désodorisation" sont normalement tolérées de même que des dilutions à 50 % dans l'huile d'amande d'insaponifiables purs de référence (soja et luzerne), en revanche, les "échappées de désodorisation" à l'état brut provoquent des réactions d'intolérance à partir de la deuxième semaine.

Nous pensons que ces réactions sont dues aux fractions non glycéridiques modifiées lors des traitements thermiques mis en oeuvre pour la purification des huiles alimentaires.

Mais il serait indispensable de vérifier la tolérance des insaponifiables purs de référence, non dilués, avant de tirer des conclusions définitives.

4) Les propriétés dermatocosmétiques des insaponifiables en applications locales ont toujours été appréciées subjectivement car l'on ne dispose pas d'une méthodologie spécifique.

Nous avons mis au point une méthode rhéologique de mesure de l'élasticité cutanée (sur peau de lapin) en utilisant un dynamomètre électronique.

Cette méthode nous a permis de mettre en évidence dans les conditions de l'expérience un effet significatif sur l'élasticité cutanée soit des bases cosmétiques à 50 % d' "échappées de désodorisation" soit d'insaponifiables purs dilués à 50 % dans l'huile d'amande.

Ces résultats ont été confirmés par l'étude par diffraction aux Rayons X.

Non seulement, on peut maintenant affirmer l'effet objectif sur l'élasticité cutanée des fractions non glycéridiques des huiles végétales, mais surtout cette nouvelle méthode développée dans notre travail pourra permettre l'appréciation objective de certains effets dermoscosmétiques sur la peau.

En outre, elle semble devoir être applicable dans d'autres domaines (élasticité du cheveu) et doit pouvoir contribuer à une meilleure connaissance des mécanismes de l'apparition des rides et des vergetures et d'une façon plus générale du vieillissement cutané.

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
des Sciences Pharmaceutiques

Ch. A. BIZOLLON

Le Président de la Thèse :

M. COTTE

VU et Permis d'Imprimer
LYON, le 20 Juin 1977

Le Président de l'Université
Claude Bernard

D. GERMAIN

A N N E X E

*

CARACTERISTIQUES PRINCIPALES DES HUILES VEGETALES (55)

CARACTERISTIQUES	ARACHIDE d'AFRIQUE		ARACHIDE Amériq ue et Af. du Sud		M A I S		S O J A		TOURNESOL	
	Moyenne		Moyenne		Moyenne		Moyenne		Moyenne	
Densité (20°)	0,914-0,916	0,915	0,917-0,920	0,9185	0,919-0,923	0,921	0,921-0,924	0,922	0,921-0,925	0,923
Indice de réfraction (20°)	1,470-1,472	1,471	1,472-1,474	1,473	1,472-1,476	1,474	1,473-1,477	1,475	1,474-1,476	1,475
Indice de saponification	189 - 196	192,5	188 - 194	191	187 - 196	191,5	188 - 195	191	188 - 193	190,5
Indice d'iode	85 - 98	91,5	98 - 108	103	105 - 128	116,5	125 - 138	131	120 - 134	127
Insaponifiable	0,6 - 1,0	0,8	0,6 - 1,0	0,8	0,8 - 2,0	1,4	0,7 - 2	1,3	0,5 - 1,5	1
Stérols mg/100 g	200 - 300	250	200 - 300	250	300 - 10000	650	150 - 380	265	300 - 400	350
Brassicestérol - Cholestérol	2 % (c)		2 % (c)							
Campestérol	11 %		11 %		20 %				11 %	
Stigmastérol	10 %		10 %		6 %				8 %	
Beta - Sitostérol									61 %	
Δ 7 - Stigmastérol	77 %		77 %		74 %				20 %	
Acides Gras										
C. 12 Laurique										
C. 14 Myristique										
C. 16 Palmitique	8,2 - 11,7	9,5	9,1 - 12,5	10,8	10,1 - 15,8	11,3	9,9 - 12,1	10,6	5 - 8	6,6
CI.16 Palmitoléique	0 - 0,3	0,1	0,2 - 0,3	0,25	0,1 - 0,3	0,2	0,2 - 0,4	0,3	0,1 - 0,4	0,1
C. 18 Stéarique	1,2 - 3,7	1,7	2,9 - 4,9	3,90	1,5 - 2,7	2,2	1,3 - 4,8	4	3,3 - 6,9	4,5
CI.18 Oléique	58 - 78,8	63,7	39,7 - 46	42,8	27,5 - 43	28,9	22,5 - 31,2	24,3	18,7 - 37,4	26,4
CI.18 Linoléique	15,3 - 23,5	18,5	29,3 - 37,4	33,3	42 - 60	55	51,9 - 68,1	60,8		
CI.18 Linolénique					0,1 - 1,9	1,5	5,2 - 8,5		0,2 - 1,4	0,4
C. 20 Arachidique	1 - 2,3		1,4 - 2,5	1,9	0,1 - 1	0,7			0 - 0,3	0,2
CI. 20 Gadoléique	0,9 - 2,1	1,3	0,9 - 1,5	1,2	0,1 - 0,3	0,2			0,2 - 1	0,5
CI.20 Arachidonique										
C. 22 Behénique	1,5 - 2,7	2,3	3,2 - 4,8	4					0,5 - 1,1	0,5
CI. 22 Erucique										
C. 24 Lignocérique	1 - 1,8	1,4	1,2 - 2,5	1,8						

BIBLIOGRAPHIE



PREMIERE ET DEUXIEME PARTIE

- 1 — **A.O.C.S. TENTATIVE METHOD Ce 3-74**
Determination of tocopherols and sterols in soya sludges and residues by gas chromatography.
- 2 — **BALSAM et SAGARIN**
Sciences et Techniques en Cosmétologie
Académie Press - New York and London
1971 - Volume II
- 3 — **BALTES J.**
Les procédés industriels de raffinage et leur influence sur les modifications des huiles et de leurs produits d'accompagnement.
Rev. Fr. Corps Gras. 1957, - 5, 245-251
- 4 — **BARAN L.R.**
Les dermites aux surfactifs
Bull. Soc. Dermoph. 1960, 9, 35-39
- 5 — **BARBIER M.**
Les alcools terpeniques
Rev. Fr. Corps gras. 1966, 13, (5) 331
- 6 — **BATICLE R.L.**
Les antioxydants utilisés en pharmacie
Labo. Pharma. 1973, 217, (1), 33-37
- 7 — **BERTHIN M.**
Quelques aspects du contrôle de l'altération des corps gras végétaux utilisés en cosmétologie.
Journées de Cosmétologie de Nantes. Janvier 1973.
- 8 — **BERTHIN (Société)**
Documentation technique sur les huiles végétales.

- 9 — BINET L. et BOURLIERE F.
Précis de Gérologie
Masson Editeur. 1955, Vol. I.
- 10 — BLOCK M.T.
Vitamine E in the treatment of diseases of the skin.
Clin. Med., 1953, 60, 31-33
- 11 — BOILEAU, PASICH, RAKOTO, RATSIMAMANKA
Les triterpénoïdes en physiologie animale et végétale.
Gauthier Editeur. 1964.
- 12 — BROOKS J.W.
Gas chromatographic examination of sterols, in the determination of sterols.
Meeting of the society for analytical chemistry. May 1962.
- 13 — BROWN J., BUTTON E., SMITH J.G.
Vitamine E et Collagène
Journal of nutrition, 1967.
- 14 — BUDZYNSKA-TOPOLOWSKA J. et RUTKOWSKI A.
Etude des alcools triterpéniques de l'insaponifiable de l'huile de Colza
Rev. Fr. Corps Gras., 1969, 11, 695-699.
- 15 — CAPELLA P.
Chromatographie sur colonne de l'insaponifiable.
J. Am. Oil. Chem. Soc., 1964, 37, 564-570.
- 16 — CHARPY J.
Quelques traitements vitaminiques ou par des substances fonctionnelles en thérapeutique dermatologique.
Bull. Med. 1950, 64, 555-560
- 17 — CHAVERON H.
Alcools triterpéniques de l'huile d'Arachide.
Rev. Fr. Corps gras, 1967, 14, (1), 21-25
- 18 — CLEMENT G.H.
A survey of the uses of vitamins.
Documentation "Les vitamines" éditée par HOFFMAN-LAROCHE
- 19 — CORNON R.
Les corps gras en cosmetologie
Rev. Fr. Corps gras, 1973, 20, (5), 271-276.

- 20 — DELAVEAU P.
Qualité des huiles végétales utilisées en dermopharmacie.
Prod. Prob. Pharm., 1972, 27, 8, 750-752
- 21 — DELAVEAU P. et HOTELLIER F.
Huiles à intérêt pharmaceutique, diététique et cosmétologique.
Ann. Pharm. Fr., 1971, 29, (7-8), 399-406
- 22 — DE NAVARRE G.
Phytosterols
Chemistry and Manufacture of Cosmetics. Vol. II., Academic Press New-York
- 23 — DE RITTER E., MAGID L., SLEEZER P.F.
Vitamins in cosmetics
Amer. Perf. Arom., 1959, 5, 25-30
- 24 — DESNUELLE P.
Sur quelques propriétés des huiles de soja hydrogénées sélectivement.
Ann., Nutr. Alim., 1973, 27, 225-232
- 25 — DUPERRAT B. et LAMBERTON J.N.
Le traitement des sclérodermies par les insaponifiables d'huiles végétales.
Arch. Belg. Derm. syphyl., 1971, 26, 270-271.
- 26 — EXPANSCIENCE (STE.)
Documentation technique
- 27 — FEDELI E.
Recherches sur les composants mineurs des huiles végétales.
Rev. Fr. Corps gras., 1968, 5, 281-289
- 28 — FEDELI E., LANZANI A., CAPELLA P.
Les composants de base des stérols
J. Am. Oil. Chem. Soc., 1966, 43, 254-258
- 29 — FEDELI E., LANZANI A., CAPELLA P., JACINI G.
Pourcentages des stérols dans les huiles végétales
J. Am. Oil. Chem. Soc., 1966, 43, 274-278.
- 30 — FEELER D.K.
Dosage des tocophérols, stérols, esters de stérols dans les distillants et résidus d'huiles végétales.
J. Am. Oil. Chem. Soc. 1974, 51, (4), 184-187

- 31 – FLESH P.
Inhibition of keratin formation with unsaturated compounds.
J. Inv. Derm. 1952, 19, 353-356.
- 32 – GOGET J.M., MOSCA P., MERLEN J.F.
Traitement des états sclérodermiques par des extraits insaponifiables d'Avocat et de Soja.
Gaz. Med. Fr. 1971, 20, 21
- 33 – GOLDRICK E.A.
External application of vitamins
Amer. Perf. cosm. 1966, 81, (12), 31-33.
- 34 – GRAILLE J. et NAUDET M.
Etude des acides oxydés présents dans les corps gras
Rev. Fr. Corps gras., 1973, 20, (4), 203-210
- 35 – GRONOWSKA-SENGER A. et KOLLAJTIS A.
Estimation of provitamin A value of some vegetables
Zesz. Nauk. Akad. Poln. warszowie. techn., Rolno-spozyw 1974, 9, 145-158.
- 36 – HOTELLIER F., DELAVEAU P.
Huiles à intérêt pharmaceutique, diététique et cosmetologique.
Ann. Pharm. Fr. 1972, 30, (7-8), 495-502
- 37 – HSI VNG, CHANG S.S.
A study of odor stability of commercial stearic acid through isolation and identification of its volatile odoriferous compounds.
J. Am. oil. Chem. Soc., 1973, 51, 189-191
- 38 – ITOH T. and al.
Composition des stérols de 19 huiles végétales.
J. Am. Oil. Chem. Soc., 1973, 50, (4), 122-125
- 39 – IVANOV.S.A., BITCHEVA P.I., KONOVA B.T.
Méthodes de détermination chromatographique et colorimétrique des phytostérols dans les huiles végétales et les concentrés stéroliques.
Rev. Fr. Corps gras., 1972, 19, (3), 177-180
- 40 – JACINI G., FEDELI E., LANZANI A.
Elimination des glycérides par cristallisation à basse température dans des solvants polaires.
J. Am. Oil. Chem. Soc., 1967, 50, 84-88

- 41 -- KALLEL H., PAQUOT C.
Concentration de la fraction insaponifiable des huiles.
Rev. Fr. Corps gras. 1973, 20, (3), 147-151
- 42 -- KAMINURA M. et MATSUZAWA T.
Absorption of tocopheryl acetate
J. Vitam. 1968, 14, (2), 12
- 43 -- KARLESKIND A.
Etude des alcools de l'insaponifiable.
Rev. Fr. Corps gras. 1968, 15, (6), 379-387
- 44 -- KHELLAF F.
Déodorants et antiperspirants
Exposé CES cosmétologie - Lyon 1975.
- 45 -- KIRCHER H.W.
Obtention du campesterol à partir d'un mélange de stérols de soja par cristallisation.
Lipids. 1974, 9, (5), 333-337
- 46 -- LE ROSSIGNOL J.N.
External vitamin application
Chiropract. 1953. January
- 47 -- LEE R., MATHEWS R., PARRISH J.A.
Detection of carotenoid pigments
J. invest. Derm. 1975, 64, (3), 175-178
- 48 -- LOURY M.
Produits odoriférants des corps gras.
Journée d'étude sur l'altération oxydative des corps gras.
Marseille 1967. 11
- 49 -- LOURY M.
La vitamine E dans les préparations cosmétiques
Parf. Cosm. Sav. Fr. 1972, (2), 70-73
- 50 -- LOURY M.
Evolution des vitamines dans la technologie des huiles et corps gras alimentaires.
Ann. Nutr. Alim. 1970, 24, B 227-246
- 51 -- LUNDBERG W.O.
Aspects chimiques, biochimiques, nutritionnels de l'huile de soja.
Fette, Seifen, Ausrichen. 1972, 74, 557-565

- 52 - MALHER E.
Les dispersions.
CAMUGLI Editeur - Lyon 1972
- 53 - MATAGRIN A.
La parfumerie Moderne 1954, 46, 45-56
- 54 - MATAGRIN A.
Les phytostérols de Soja : Proportions - Composition - propriétés.
Industr. Agr. Alim. 1952, (4), 14-17
- 55 - MAYOLAND (STE)
Caractéristiques principales des huiles de Soja, Maïs et Arachide
Documentation - SECLIN.
- 56 - MAYOLAND (STE)
Composition des huiles de Soja, Maïs et Arachide.
Documentation.
- 57 - MAYOLAND (STE)
La désodorisation
Documentation technique.
- 58 - MERAT P.
Les constituants odorants des huiles
La Parfumerie Française, 1951, 23, (7-8), 51-56
- 59 - MEIJER J.W.A.
Gas chromatography of steroids
Planta Meddica (Suppl.) 1967, 49-51
- 60 - MEYBECK A.
Photochimie des protéines et vieillissement de la peau.
Act. Derm. Pharm. 1975, 7, 231-235.
- 61 - MORDRET F.
Fractionnement chromatographique de l'insaponifiable
Rev. Fr. Corps gras., 1969, 16, (10), 639-652
- 62 - MORDRET F.
Etude de l'insaponifiable des huiles de Colza, Soja, Tournesol.
Thèse - Paris 1971

- 63 – MORDRET F.
Caractérisation et dosage des antioxygènes dans les corps gras.
Parf. Cosm. Sav. Fr. 1973, 3, (4), 39-41
- 64 – MOROROV V.S.
Echappées de désodorisation de l'huile de Soja obtenues de l'installation DE SMET :
valeurs nutritionnelles de la vitamine E.
Maslorvi. Prom., 1974, (8), 35-37
- 65 – MUELLER - MULOT W.
Analyse des carotènes dans les huiles de Palme brutes.
Rev. Fr. Corps gras., 1975, 22, (3), 131-136
- 66 – NAUDET M., MORDRET-SIR F., COSTE G.
Sur la nature et la composition des produits éliminés au cours de la désodorisation.
Rev. Fr. Corps gras., 1969, 16, (4), 259-268.
- 67 – NAUDET M., BIASINI S.
Dosage des acides oxydés par chromatographie sur couche mince.
Rev. Fr. Corps gras., 1972, 19, (5), 307-310.
- 68 – NAUDET M., CECCHI G.
Identification des constituants des Echappées non volatiles.
Rev. Fr. Corps gras., 1970, 17, (8-9), 529-535.
- 69 – NAUDET M. et CECCHI G.
Sur la répartition des stérols au cours de la désodorisation des huiles végétales.
Rev. Fr. Corps gras., 1973, 20, (1), 27-31
- 70 – NETIEN G. et MAHFOUZ A.
Les stéroïdes
Cours de Physiologie végétale de Pharmacie - Lyon.
- 71 – NEUMANN B.
Huiles végétales en cosmétologie.
Parf. Cosm. Sav. Fr. 1967, 10, (10), 27-31
- 72 – NEUMANN B., PALERMO B.T.
Are topical vitamins underestimated ?
Am. Parf. Arom. 1959, (5), 13-15
- 73 – OURISSON G.
Biosynthèse des Insaponifiables.
Compte-rendu de l'Académie des Sciences, 1964, 259-284.

- 74 - OURISSON G. et BENYESTE P.
Biosynthèse des Insaponifiables.
Phytochimie, 1966, (5), 31-45
- 75 - OTA S. et RAKEVCHI T.
Utilisation des condensats de desodorisation
YUKUGAOKU. 1970, 19, (8), 819-835.
- 76 - PAQUOT C. et KALLEL H.
L'insaponifiable de l'huile d'olive
Rev. Fr. Corps gras., 1973, 20, (6), 329-333
- 77 - PASERO J. et NAUDET M.
Sur les constituants mineurs des corps gras.
Rev. Fr. Corps gras., 1965, 12, (12), 523-527.
- 78 - PETIT A.
Absorption par la peau du cholestérol.
La Parfumerie Moderne, 1954, 46, 9-13
- 79 - POKORNY J.
Stabilité et stabilisation des tocophérols dans les condensats de désodorisation.
NAHRUNG. 1974, 18, (6-7), 635-643
- 80 - PRINGUET A.
L'huilerie en Europe.
Rev. Fr. Corps gras., 1959, 7, (6), 75-80
- 81 - RAKOTAVO M.
Les insaponifiables des huiles végétales.
Thèse Spécialité Chimie - Marseille 1972.
- 82 - RANDERATH K.
La chromatographie sur couche mince.
Gauthier - Villars, Paris 1971.
- 83 - RASMUSSEN-CARL (SA)
Phytosterol : végétale cholesterol
Documentation scientifique.
- 84 - ROBERT A.M., MISKULIN M., GODEAU G., ROBERT L.
Action des insaponifiables d'Avocat et de Soja sur le métabolisme de la matrice
intercellulaire.
Gaz. Med. Fr. 1975, 82, (1), 1-7.

- 85 – ROBERT A.M., MISKULIN M.
Action des insaponifiables sur le métabolisme de la matrice intercellulaire.
12^e Congrès de Dermopharmacologie - Lyon 1977.
- 86 – ROCHE
Les vitamines en cosmétologie.
Documentation scientifique HOFFMANN-LAROCHE.
- 87 – SEINO H.
Etude de l'écume de désodorisation de l'huile de Soja.
YUKUGAOKU. 1971, 20, (4), 218-222.
- 88 – SHARAF A. et GOMAA N.
Phytoestrogens and their antagonism to progesterone and testosterone.
J. Endocrin. 1965, 31, 289-290.
- 89 – SHARAF A. et NEGM S.
Oestrogenic activity of Zea Maïs Oil.
Qual. Plant. Mat. veg. 1973, 22, (3-4), 249-252.
- 90 – SINCLAIR H.M.
Vitamins and the skin.
Brit. Med. Bull. 1956, 12, (1), 5-8.
- 91 – SISLEY J.P.
Les antioxygènes en cosmétologie.
La Parfumerie Moderne, 1951., 23, (7-8), 39-46
- 92 – SROUR J.
Identification et dosage des pigments des huiles végétales
Rev. Fr. Corps gras., 1969, 16, (4), 269-275.
- 93 – SWERN D.
BAILEY'S INDUSTRIAL OIL and Fat Products.
Third Edition - Interscience 1964 - 897-330
- 94 – THIERS H.
Les vitamines et les insaponifiables des huiles végétales.
Act. Derm. Pharm. 1974, 6, 195-199.
- 95 – THIERS H.
Les insaponifiables des huiles végétales.
Presse Médicale, 1958, 66, (56), 129.

- 96 - **THIERS H., ZWINGLESTEIN, JOUANNETEAU G.**
Un groupe d'agents thérapeutiques nouveaux : les insaponifiables des huiles végétales leurs caroténoïdes, leurs phytostérols et leur indéterminé, administrés en solution alcoolique.
Thérapie, 1961, 16, 235-251.
- 97 - **THIERS H.**
Les cosmétiques.
Masson - Paris 1962.
- 98 - **UZZAN A.**
Les stérols des sous-produits de l'huilerie : obtention - identification - possibilités d'emploi.
Ann. Nutr. Alim. 1959, 13, (2), A 389-416.
- 99 - **VERGNON P., DREVON B., ROCHANDEL M.**
La détermination automatique des joints de fusion.
Bull. Trv. Soc. Pharm. 1968, 12, (3).
- 100 - **VOGELSANG A., SHUTE E., SHUTE W.**
Some medical uses of vitamin E.
Med. Rec. 1948, (2), 161.
- 101 - **WALBECQ M.**
Notes sur l'insaponifiable de l'huile d'Arachide.
Rev. Fr. Corps gras. 1966, 13, 2, 101-108
- 102 - **WALBECQ M.**
Extraction de la fraction insaponifiable des huiles avant et après désodorisation et celle des échappées par l'oxyde d'éthyle.
Thèse Université - Paris 1966.
- 103 - **WENNERSTEN G., SWANBECK G.**
Treatment of light sensitivity with carotenoids serum concentration and light production
Acta. Derm. Venerol. 1974, 54, (6), 491-499
- 104 - **WOLFF J.P.**
Contrôle de la qualité et de la pureté des corps gras en cosmétologie.
Parf. Cosm. Sav. 1966, (6), 3-8.
- 105 - **WOLFF J.P.**
Manuel d'Analyse des corps gras.
AZOULAY (ED) - Paris 1972.

106 – WOLFF J.P.

Conservation des corps gras : mesure de l'altération.
Bull. Soc. Derm. Pharm. 1966, 31, (7), 5-22

107 – YOSHIDA H.

Rôle des tocophérols sur la composition en acides gras des phospholipides et la stabilité des Erythrocytes.
YUKUGAOKU. 1974, 23, (6), 275-279.

TROISIEME PARTIE

108 – AGACHE. P.

Propriétés mécaniques du stratum cornéum.
Congrès Européen de Dermopharmacologie - Lyon 1977.

109 – BANFIELD W.G.

Age changes in the swelling capacity of the human Achille tendon.
J. Geront. 1956, (11), 372.

110 – BJORKSTEN J.

The crosslinkage theory of aging.
J. Am. Geriat. Soc. 1968, 16, (4).

111 – BOTTOMS E., COTER C.W., SHUSTER S.

Effect of U.V. irradiation on skin collagen.
Nature - 1966, 211, 97-99

112 – BROWN I.A.

Scanning electron microscopy of human dermal fibrous tissue.
J. Anat. 1972, 113, (2), 159-161.

113 – BROWN L., HARKNESS M.L.R.

Effect of hydrazine and other aldehyde reacting agents on mechanical properties of Rat tail skin.
Acta. Physiol. Acad. Scient. Hung. 1969, 36, (1-2), 157-169.

114 – CLAR E.

Act. Derm. Pharm. 1974.

- 115 - CORTON R.W., CLARK J.W.
Elastic Properties of single elastic fibers.
J. Appl. Physiol. 1962, 7, (3), 547-553.
- 116 - CHARLES A., SMIDDY F.G
Tonofibrils of the human epidermis.
J. invest. Derm. 1957, 29, 327-330.
- 117 - CHENG W.M.
Mesures in-vitro et correlation avec les méthodes in-vivo des propriétés du tegument humain.
Act. Derm. Pharm. 1972, 6, 140-147.
- 118 - CHIEFFI M.
An investigation of the effect of the topical administration of steroids on the properties of senile skin.
J. Geront. 1950, 5, 17-20.
- 119 - COMTE P., HUC A.
Application des méthodes physicochimiques à l'étude du vieillissement du collagène.
Act. Derm. Pharm. 1972, 6, 19-30.
- 120 - COMTE P.
Biochimie et Physiologie du tissu conjonctif
Sté. ORMELO et Imprimerie du SUD-EST - Lyon 1966.
- 121 - CRAIK J.E., MC. NEIL J.R.
Micro architecture of skin and its behaviour under stress
Nature - London 1966, 209, 931-932.
- 122 - DALY C.H.
The role of elastin in the mechanical behaviour of human skin.
Proc. 8th Int. Conf on Mechanical and Biological Engineering
Tokyo, 1969, 18-27.
- 123 - DELAUNAY A., BAZIN S.
Remarques préliminaires sur la maturation du collagène
LYON MEDICAL - 1971, 226, (13), 25-31.
- 124 - DICK J.C.
The tension and resistance to stretching of human skin and other membranes with results from a series of normal and oedematous cases.
J. Physiol. 1951 - 112, 102-113.

- 125 – DILLON, BEURLING, MELLON
Propriétés mécaniques des agrégats de fibres de collagène de peau de Taureau.
JALCA, 1962, 57, (4), 136-154.
- 126 – DOCUMENTATION CLR
Détermination de l'élasticité cutanée par utilisation d'un élastomètre
à ondes courtes.
- 127 – DOWNING D.T., STRAUSS J.S., PACHI P.
Variability in the chemical composition of human skin surface lipids.
J. invest. Derm. 1963, 53, 322-326
- 128 – DUNOYER G.
Action du Diméthylformamide sur le collagène acidosoluble.
Thèse de Doctorat des SCIENCES - Lyon 1975.
- 129 – DUBOIS P.
Plastiques Modernes.
MASSON (ED) - Paris 1968, 1, 250-270
- 130 – DUPERRAT B.
Le syndrome d'Ehlers Danlos.
Gaz. Med. Fr. 1965, 72, 4037-4039
- 131 – ELDEN H.R.
Biophysical properties of aging skin in :
Advances in biology of skin
MEREDITH - DESMOINES, 1970, X, 231-252
- 132 – FINLAY B.
Scanning Electron Microscopy of the human dermis under uniaxial strain.
Bio. Med. Engin. 1969, (4), 322-327.
- 133 – FINLAY B.
Dynamic mechanical testing of human skin in vivo.
J. biomechanics. 1970, (3), 557-568.
- 134 – FLESH P.
Some chemical aspects of aging skin.
Toil. Goods. Assoc. 1964, 41, 23-27.
- 135 – FREY J., FARJANEL J., HELFRE G.
Exploration du métabolisme du collagène.
Lyon Médical, 1971, 226, (13), 17-24.

- 136 - FLEURY P., MATHIEU J.P.
Mécanique physique.
EYROLLES - Paris 1965 - 4^e Ed.
- 137 - FRISEN M., MÄGI M., VIIDICK A.
Rheological analysis of soft collagenous tissue : theoritical considerations.
J. Biomechanics. 1969 (a), 2, 13-20.
- 138 - FRISEN M., MÄGI M., VIIDICK A.
Rheological analysis of soft collagenous tissue : Experimental evaluations and verifications.
J. biomechanics, 1969 (b), 2, 21-28.
- 139 - FUNG Y.C.B.
Elasticity of soft tissues in simple elongation.
Amer. J. phys. 1967, 213, 1532-1544
- 140 - GIBSON T., KENEDI R.M., CRAIK J.E.
The mobile microarchitecture of dermal collagen.
Brit. J. Surgery. 1965, 52, 764-770.
- 141 - GIBSON T., STARK H., EVANS J.H.
Directional variation in extensibility of human skin in vivo.
BIOMECHANICS. 1969, (2), 201-204.
- 142 - GLICK J.
Mesure de la dureté de la Keratine
J. Soc. Cosm. Chem. 1956, 7, 530-534
- 143 - GRAHAM R., BEIGHTON P.
Physical properties of skin in the Ehlers Danlos syndrome.
Am. Rheum. Dis. 1969, 28, 246-249.
- 144 - GRAHAM R., HOLT P.J.L.
Influence of ageing on the in vivo elasticity of human skin.
Gerontologia 1969, 15, 121-139.
- 145 - GRAHAM R.
Elasticity of human skin in vivo.
Ann. Physiol. Med. 1969, 10, (3), 130-132.
- 146 - GUSTAVSON K.H.
Chemistry and Reactivity of Collagen
Academic Press - New York 1956.

- 147 – HALL D.H.
International Review of connective tissue Research.
Academic Press, New York and London, 1968, vol. 4.
- 148 – HARKNESS R.D.
Mechanical properties of collagenous tissues in :
TREATISE ON COLLAGEN
Gould B.S. Ed., Academic Press, New York, 1966, vol. 2A, chapt. 6.
- 149 – HERBAGE D.
Réactivité de la fraction acido-soluble du collagène et comportement dans les mélanges eau-solvant organique.
Thèse de Doctorat et Sciences Physiques - Lyon 1970.
- 150 – HERBAGE D., FLANDIN F.
Relation entre les propriétés mécaniques de la peau et la nature biochimique du collagène.
Act. Derm. Pharm. 1975.
- 151 – HERFELD A. et SCHMIDT T.
De l'effet de différents produits de nourriture sur les propriétés physiques du cuir.
GERBERE ; WISSENSCHAFT UND PRAXIS, 1965, 17, (13), 87-106.
- 152 – HULT A.M., GOLTZ R.W.
The measurements of elastin in human skin and its quantity in relation to age.
J. Invest. Derm. 1965, 44, 408-412.
- 153 – HUC A., PLANCHE C.L., MANNSCHOTT P., CHAPIN F., CHABRAND D.
Study of pig valve heterografts by X-Ray diffraction.
J. Biomed. Mater. Res. 1975, 9, 79-95.
- 154 – HUC A., CHABRAND D.
L'eau joue-t-elle un rôle dans la structure du collagène.
Act. Derm. Pharm. 1973, 5, 89-93.
- 155 – HUC A., BUFLEVANT C., CHABRAND D., CHAPIN F.
La diffraction des rayons X.
TECHNICUIR - 1973, 7, (8-9), 13-18.
- 156 – IPPEN M., IPPEN H.
Approaches to a prophylaxis of skin aging.
Journ. Soc. Cosm. Chem. 1965, 16, (6),

- 157 — JANSEN L.H., ROTTIER P.B.
Elasticity of human skin related to âge.
Dermatologica. 1957, 115, 106-111.

- 158 — JANSEN L.H., ROTTIER P.B.
Some mechanical properties of human abdominal skin measured on excised strips.
Dermatologica 1958. 117, 65-83.

- 159 — JOUANNETEAUJ. ZWINGLESTEIN G.
Evolution biochimique de la peau avec l'âge.
Act. Derm. Pharm. 1972.

- 160 — JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANCAISE.
Evaluation de l'irritation cutanée primaire.
1971 - 21 Avril - p. 3862.

- 161 — J. O. REPUBLIQUE FRANCAISE.
Evaluation de l'irritation cutanée primaire.
1973, 16 Avril.

- 162 — J. O. REPUBLIQUE FRANCAISE.
Evaluation de l'irritation oculaire.
1971, 21 Avril, p. 3883

- 163 — J. O. REPUBLIQUE FRANCAISE
Evaluation de l'agressivité cutanée superficielle.
1971, 21 Avril, p. 3863.

- 164 — J. O. REPUBLIQUE FRANCAISE
Evaluation de l'agressivité cutanée superficielle.
1973, 9 Février, p. 1539.

- 165 — KENEDI R.M., GIBSON T.
Etude expérimentale des tensions de la peau dans le corps humain.
Système de mesures des forces et résultats.
Rev. Fr. Mécanique. 1962, (4), 121-126.

- 166 — KIRK J.E., CHIEFFI M.
Variation with age in elasticity of skin and subcutaneous tissue in human individuals.
J. Geront. 1962, 17, 373-380.

- 167 — KIRK E.U., KUORNING S.A.
Quantitative measurements of the elastic properties of the skin and subcutaneous tissue
in young and old individuals.
J. Geront. 1949, 4, 273-284

- 168 – KLIGMAN A., ENNO C.
Preparation of isolated sheets of human stratum corneum.
Arch. Derm. 1964, 88, 702-705
- 169 – LABAN M.M.
Collagen tissue : implications of its response to stress in vitro.
Arch. Phys. Med. Rehab. 1966, 43, 461-466.
- 170 – LADEN K., MORROW R.
Torsional measurements on skin.
J. Soc. Cosm. Chem. 1970, 21, 417-420
- 171 – LIN Y., STERLING C., SHIMAZU F.
Effect of age on the cristallinity of collagen. X-Ray evidence.
J. Geront. 1968, 23, 220-225
- 172 – LOUISOT P.
Mucopolysaccharides et glycoproteines du tissu conjonctif.
Lyon Médical, 1971, 226, (13), 33-48.
- 173 – MA C.K., COWDRY E.V.
Aging of elastic tissue in human skin.
J. Geront. 1950, 5, 203-210.
- 174 – MC CORKEY B., WALTON K.W., CARNEY S.A.
Significance of the occurrence of transparent skin. A study of histological characteristics and biosynthesis of dermal collagen.
Ann. Rheum. Dis. 1967, 26, 219-225.
- 175 – MC GAVACK T.H., KAO K.Y.T.
The influence of age and sex on the soluble collagen, insoluble collagen and Elastin of rat tissues.
Exp. Med. Surg. 1960, 18, 104-110.
- 176 – MARTIN M.B.
The mechanical behaviour of human tissue.
J. Mat. Sci. 1973, 8, 631-639.
- 177 – MARZULLI F.N.
Barriers to skin penetration.
J. invest. Derm. 1962, 37, 387-390.

- 178 – MENKART J., MELLON E.F.
Propriétés mécaniques des peaux de boeuf et des agrégats de fibres de collagène.
JALCA - 1962, 57, (7), 318-342.
- 179 – MEUTRON D.N., EISEN A.Z.
Structural organisation of the stratum corneum in certain scaling disorders of the skin.
J. invest. Derm. 1971, 57, 295-297.
- 180 – MERCER E.H., MAIBACH H.I.
Intercellular adhesion and surface coats of epidermal cells in psoriasis.
J. Invest. Derm. 1968, 51, 215-222.
- 181 – MIDDLETON J.D.
Pathways of penetration of electrolytes through stratum corneum.
Brit. J. Derm. 1969, 81, (4), 56-62.
- 182 – MIDDLETON J.D.
The effect of temperature on extensibility of isolated corneum and its relation to skin.
Brit. J. Derm. 1969, 81, 717.
- 183 – MIDDLETON J.D.
The mechanism of water binding in stratum corneum.
Brit. J. Derm. 1968, 80, 437.
- 184 – MINUS R.J., SODEN P.D., JACKSON D.S.
The role of the fibrous components and ground substance in the mechanical properties of biological tissues : A preliminary investigation.
J. Biomechanics 1973, 6, 153-165.
- 185 – MOHANARADHAKRISHNAN V., RAMANATHAN N.
Studies on collagen fibers.
Leather science 1965, 12, 12-20.
- 186 – MORGAN F.R.
The mechanical properties of collagen fibers.
J. Soc. Leather. Trades' Chem. 1960, 44, 170-182.
- 187 – MITTON R.G.
Propriétés de résistance à la traction et leur variabilité sur les peaux de veaux tannées.
J. Soc. Leather Trades's Chem. 1948, 310-323.
- 188 – NEUMANN R.E., LOGAN M.A.
The determination of collagen and elastin in tissues.
J. Biol. Chem. 1950, 186, 549-565.

- 189 – NIMNI E.M., GUIA E., BAVETTA L.A.
Collagen, hexosamine and tensile strength of rabbit skin during aging.
J. Invest. Derm. 1966, 47, 156-158.
- 190 – PARK A.C., BADDIEL C.B.
Rheology of stratum corneum : A molecular interpretation of the stress strain curve.
J. Soc. Cosm. Chem. 1972, 23, (3),
- 191 – PAROT S., BOURLIERE F.
Une nouvelle technique de mesure de la compressibilité de la peau et du tissu sous-cutané
influence de l'âge, du sexe et du site de mesure sur les résultats.
Gerontologia 1967, 13, 95-110.
- 192 – PARTRIDGE S.M.
Elastin
Adv. Prot. Chem. 1962, 17, 227-230.
- 193 – PERSKII E.E., ATEVSKAYA L.A.
Changements avec l'âge des propriétés physicochimiques des fibres de collagène.
ONTOGENIZ 1971, 54, (2), 188-192.
- 194 – PERSOZ B.
Introduction à l'étude de la Rhéologie.
DUNOD (ED) Paris 1960.
- 195 – PIERAR J.
Propriétés mécaniques de l'élastine
Congrès de Dermopharmacologie - Lyon 1977.
- 196 – RAMACHANDRAN G.N.
Treatise on collagen
Academic Press, New York and London, 1967, Vol. 1.
- 197 – RAMANATHAN N.
Rupture à la traction des fibrilles de collagène.
Etude au microscope électronique.
Leather Science 1966, 13, (3), 82-85.
- 198 – RICH A., CRICK F.H.C.
The molecular structure of collagen.
J. Mol. Biol. 1961, 3, 483-486.

- 199 – RIDGE M.D., WRIGHT V.
The directional effects of skin.
J. Invest. Derm. 1966, 46, (4), 341-346.
- 200 – RIDGE M.D., WRIGHT V.
A bioengineering study of the mechanical properties of human skin in relation to its structure.
J. invest. Derm. 1967, 47, (5), 335-340.
- 201 – RIDGE M.D., WRIGHT V.
The description of skin stiffness.
Biorheology, 1964, 2, 67-74.
- 202 – SHELMIR E.
Effet des émulsions sur l'élasticité des disques isolés de stratum corneum.
J. Invest. Derm. 1956, 26, 105-107.
- 203 – SHENPLEIN R., BLANK I.H.
Perméability of the skin.
Phys. Rev. 1971, 51, 702-704.
- 204 – SCHREIER W.
Influence de la teneur en humidité sur le comportement à l'allongement de la fleur du cuir.
Leather Science 1966, 1, (11), 443-447.
- 205 – SHUSTER S., BOTTOM E.
Senile degeneration of skin collagen.
Clin. Sci. 1963, 25, 487-490.
- 206 – SMADJA C.
Rheologie des matériaux.
Cours de l'Ecole Française de Tannerie.
- 207 – SMITH J.G., FINLAYSON G.R.
Dermal connective tissue alterations with age and chronic sun damage.
J. Soc. Cosm. Chem. 1965, 16, 527-530.
- 208 – STRUCK H.
Examens experimentaux pour améliorer la cicatrisation des plaies.
Grundlagen und Pharmakologisches beeinflussung.
HEISTER R. et HOFMANN H.F. (Ed). Munchen 1966, 365.

- 209 – STRUCK H., SCHINK W., RICHTER J., MOLL W.
Appareillage pour déterminer la tension de rupture des plaies in vivo.
Z. Ges. Exp. Med. 1967, 142, 87-90.
- 210 – SWANBECK G., THYRESSON N.A.
A study of the state of aggregation of the lipids in normal and sporiatic horny layer.
Acta. Derm. Venerol. 1962, 42, 445-446.
- 211 – SWANBECK G., THYRESSON N.A.
An X-ray diffraction study of scales from different dermatosis.
Acta. Derm. Venerol. 1961, 41, 289-291.
- 212 – THIERS H., MOULIN G.
Peau sèche ou peau rèche ?
Act. Dermo. Pharm. 1973, 5, 27-30.
- 213 – TRONNIER H.
Méthodes de mesure des caractéristiques mécaniques de la peau.
Act. Derm. Pharm. 1972, 6, 111-122.
- 214 – TUI C., KUO N.H., SIMUNGCO S.
Protein studies in scleroderma.
J. Invest. Derm. 1950, 15, 181-183.
- 215 – VALLET G., COMPTE P., MARION L., HUC A.
Chimie-physique de la molécule de collagène.
Lyon Médical 1971, 226, (13), 7-16.
- 216 – VIDUICK A.
Rheology of skin.
Front. Matrix Biol. Karger-Basel (Ed) 1973, 1, 157 - 189
- 217 – VOGEL H.G.
Collagen and mechanical strength in various organs of rats treated with
D - Penicillamine or Amino-Acetonitrile.
Conn. Tissue. Res. 1975, 3, 237 - 244.
- 218 – VOGEL H.G.
Correlation between tensile strength and collagen content in rat skin.
Effet of age and cortisol treatment.
Conn. Tissue Res. 1974, 2, 177 - 182.
- 219 – WEINSTEIN G.D. BOUCEK R.J.
Collagen and elastin of human dermis.
J. Invest. Derm. 1960, 35, 227 - 230.

- 220 – WERTHEIM H.G.
Mémoire sur l'élasticité et la cohésion des principaux tissus du corps humain.
Chim. Phys. 1847, 21, 385 - 414
- 221 – WILDNAUER R.H., BOTHWELL J.W.
I. Influence of water content on the biomechanical properties of stratum corneum.
J. Invest. Derm. 1970, 35, 436 - 439.
- 222 – WILDNAUER R.H., BOTHWELL J.W. DOUGLASS A.B.
II. Influence of water content on the biomechanical properties of stratum corneum.
J. Invest. Derm. 1971, 56, 72 - 76
- 223 – WILKES G.L., BROWN I.A., WILDNAUER R.H.
The biomechanical properties of skin.
Crit. Rev. Bioengin. 1973, (8), 453 - 494.
- 224 – WILKES G.L., NGUEYEN A.L., WILDNAUER R.H.
Dynamic mechanical and thermal properties of the stratum corneum layer of epidermis.
J. Macromol. SCI Phys. 1974, B9, (2), 333 - 340.
- 225 – WILKES G.L., WILDNAUER R.H.
Structure property relationship of the stratum corneum of human and neonatal rat.
Bioch. Biophys. Acta. 1973, 304, 276 - 289.
- 226 – WOLFRAM M.A., WOLEJSZA N.F., LADEN K.
Biomechanical properties of delipized stratum corneum.
J. Invest. Derm. 1973, 59, 421 - 428.



TABLE DES MATIERES

*

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : LES INSAPONIFIABLES	3
I. LES INSAPONIFIABLES EN DERMOCOSMETOLOGIE	4
1. Les travaux cliniques	4
1.1. Action eutrophique locale	4
1.2. Action profonde	6
1.2.1. Sur les sclérodermies	6
— leurs causes	6
— les altérations cutanées	7
— utilisation des insaponifiables	8
1.2.2. Action modificatrice du Cholestérol	8
1.2.3. Action sur les névralgies et lumbagos	9
1.2.4. Sur le syndrome d'épiphysite	9
1.2.5. Sur la pyorrhée alvéolaire	9
2. Insaponifiables et vitamines	9
2.1. La Vitamine E	10
2.1.1. Effets thérapeutiques et protecteurs	10
2.1.2. Absorption percutanée	11
2.2. Les caroténoïdes	12
3. Insaponifiables et hormones	12
Conclusion	13
II. COMPOSITION DES INSAPONIFIABLES	15
— Définition	15
— Composition	16
1. Origine des Insaponifiables	16
2. Constituants de l'Insaponifiable	18
2.1. Les stérols	18
2.1.1. Structure générale des stérols	18
2.1.2. Structure des phytostérols	19
. stérols libres	19
. esters de stérols	21
. génines stéroïdiques	21
2.2. Les Tocophérols	21
2.2.1. Structure	21
2.2.2. Propriétés	22

2.3. Les hydrocarbures	24
2.3.1. Saturés	24
2.3.2. Insaturés	25
2.3.3. Terpéniques	25
2.4. Les Xantophylles	26
2.5. Les alcools	28
2.5.1. Alcools aliphatiques	28
2.5.2. Alcools terpéniques	28
— monoterpéniques	29
— sesquiterpéniques	29
— triterpéniques	29
3. Moyens d'étude	30
3.1. Obtention de l'insaponifiable	30
3.1.1. Distillation moléculaire	31
3.1.2. Cristallisation	31
3.1.3. Saponification	31
3.1.4. Extraction	32
3.2. Analyse de l'insaponifiable	33
3.2.1. Chromatographie sur colonne	33
— les éluants	33
— les adsorbants	34
3.2.2. Chromatographie sur couche mince	35
— les adsorbants	35
— les solvants	35
— les révélateurs	35
3.2.3. Chromatographie en phase gazeuse	37
— choix d'un dérivé	39
— choix des conditions expérimentales	39
— structure et temps de rétention	41
3.2.4. Paramètres physiques	42
3.2.5. Spectrographie	42
3.2.6. Dosage des stérols par précipitation à la digitonine	43
3.2.7. Colorimétrie	43
DEUXIEME PARTIE : LES ECHAPPEES DE DESODORISATION	45
I. ORIGINE — NATURE — COMPOSITION	46
1. Origine des échappées	46
1.1. Le raffinage des huiles	46
1.1.1. La démucilagination	46
1.1.2. La neutralisation	47
1.1.3. La désacidification	48
1.1.4. Le blanchiment	48
1.1.5. La désodorisation	48
1.1.5.1. Sa nécessité	48
1.1.5.2. Les composants odorants	49
1.1.5.3. Le mode opératoire	49

1.2. <i>Caractéristiques des huiles d'origine</i>	50
2. <i>Composition des échappées</i>	51
2.1. <i>Nature des constituants</i>	51
2.2. <i>Etat et proportion des constituants principaux</i>	52
2.2.1. <i>Tocophérols</i>	52
2.2.2. <i>Stérols</i>	52
2.2.3. <i>Acides gras libres</i>	54
 II. <i>ETUDE ANALYTIQUE DES ECHAPPEES</i>	55
– <i>Obtention</i>	55
– <i>Caractères Organoleptiques</i>	55
– <i>Prélèvement de l'échantillon moyen</i>	55
– <i>Composition</i>	56
 1. <i>Caractéristiques analytiques des échappées</i>	57
1.1. <i>Physiques</i>	57
1.1.1. <i>Solubilité</i>	57
1.1.2. <i>Indice de réfraction</i>	57
1.2. <i>Chimiques</i>	57
1.2.1. <i>Protocoles</i>	58
1.2.1.1. <i>Acidité libre</i>	58
1.2.1.2. <i>Indice de saponification</i>	58
1.2.1.3. <i>Indice d'iode</i>	58
1.2.1.4. <i>Indice de peroxydes</i>	59
1.2.1.5. <i>Humidité et cendres</i>	59
1.2.2. <i>Résultats</i>	59
1.3. <i>Physicochimiques : chromatographie sur couche minde</i> 59	
1.3.1. <i>Protocole</i>	59
1.3.2. <i>Résultats</i>	60
 2. <i>Fractionnement des échappées</i>	60
2.1. <i>Fractionnement du produit brut</i>	65
2.1.1. <i>Procédés d'obtention</i>	65
2.1.2. <i>Etude chromatographique qualitative</i> <i>des stérols isolés</i>	68
2.1.2.1. <i>Acétylation des stérols</i>	69
2.1.2.2. <i>Chromatographie sur couche minde</i>	69
2.1.2.3. <i>Chromatographie en phase gazeuse</i>	71
2.2. <i>Isolement des stérols à partir de l'insaponifiable</i>	71
2.2.1. <i>Procédés d'obtention</i>	77
2.2.1.1. <i>Obtention de l'insaponifiable</i>	77
2.2.1.2. <i>Obtention des stérols</i>	77
2.2.2. <i>Identification des stérols</i>	78
2.2.3. <i>Dosage des stérols par chromatographie en</i> <i>phase gazeuse</i>	78
2.2.3.1. <i>Conditions expérimentales</i>	78
2.2.3.2. <i>Résultats</i>	78

2.2.4. Essai d'application au produit fini	79
2.3. Identification des acides gras des échappées	79
2.3.1. Chromatographie des esters méthyliques	79
2.3.2. Résultats	79
3. Analyse des lots d'échappées correspondant à une "tranche" d'huile raffinée	80
3.1. Résultats	80
3.2. Nécessité et mise au point d'un cahier des charges	80
4. Essais d'amélioration des caractéristiques organoleptiques des échappées	83

III. ETUDE TECHNOLOGIQUE 87

1. Formulation du produit à l'état brut	87
1.1. Etude du comportement physique	87
1.1.1. Comportement à la centrifugation	87
1.1.2. Pouvoir émulsionnant	87
1.1.3. Détermination du point de fusion	87
1.1.4. Mesure du pH	88
1.1.5. Influence de l'homogénéisation	88
1.2. Formulation	88
1.2.1. Choix des formules	88
1.2.1.1. Formulation H/E	88
. Caractéristiques des différents constituants	88
. Mode opératoire	89
. Caractéristiques des crèmes obtenues	89
1.2.1.2. Formulation E/H	89
. Caractéristiques des différents produits	89
. Mode opératoire	89
. Caractéristiques des crèmes obtenues	89
1.2.2. Contrôles	91
. Caractères organoleptiques	91
. pH	91
. Examen entre deux lames	91
. Dureté	91
. Longueur de fibres	92
. Réversibilité	92
. Stabilité à l'étuve	92
2. Mise en forme galénique des échappées	93
2.1. Gel	93
2.2. Excipient pâteux	93
2.3. Liquide huileux	94
2.3.1. Première série d'essais	94
2.3.1.1. Diluants sélectionnés	94

2.3.1.2. Solubilisation et contrôles	95
– Mode opératoire	95
– Stabilité des mélanges	95
– Détermination de la couleur	95
2.3.1.3. Formulation	97
– Type de formule choisi et justification	97
– Caractéristiques des matières premières	97
– Mode opératoire	98
– Caractéristiques du produit fini Commentaires	98
2.3.2. Deuxième série d'essais	98
2.3.2.1. Diluants sélectionnés	100
2.3.2.2. Obtention des mélanges	102
2.3.2.3. Formulation	103
– Couple émulsionnant	105
. Tableau de formules	105
. Caractéristiques des matières premières	105
. Mode opératoire	105
. Caractéristiques du produit fini	105
– Base autoémulsionnable	107
. Tableau de formules	107
. Caractéristiques des matières premières	107
. Mode opératoire	107
. Caractéristiques du produit fini	107
2.3.3. Troisième série d'essais	113
Conclusion	117

* * *

TROISIEME PARTIE : TOLERANCE ET ACTIVITE.	119
I. TOLERANCE	121
1. Détermination de l'irritation cutanée primaire	121
1.1. <i>Protocole</i>	121
1.2. <i>Résultats et interprétation</i>	124
2. Détermination de l'irritation oculaire	124
2.1. <i>Protocole</i>	124
2.2. <i>Résultats et interprétation</i>	124
3. Evaluation de l'agressivité superficielle cutanée	125
3.1. <i>Echantillonnage</i>	125
3.2. <i>Première expérimentation</i>	125
3.2.1. <i>Protocole</i>	125
3.2.2. <i>Résultats</i>	126

3.2.2.1. Evolution pondérale des animaux	126
3.2.2.2. Agressivité superficielle cutanée	126
3.2.2.3. Examen biopsique de la peau	127
3.2.3. Conclusions	127
3.3. Deuxième expérimentation	128
3.3.1. Protocole	128
3.3.2. Résultats et interprétation	133

II. ACTIVITE 137

1. Structure générale cutanée	139
1.1. L'épiderme	139
1.1.1. Rôle de l'état structural du stratum corneum	140
1.1.1.1. Structure du stratum corneum	140
1.1.1.2. La kératinisation	140
1.1.1.3. Rôle de la structure du stratum corneum sur ses propriétés mécaniques	140
1.1.1.4. Rôle des lipides et de l'eau dans les propriétés du stratum corneum	140
1.2. Le Derme	144
1.2.1. Constituants fibreux du derme	146
1.2.1.1. La réticuline	146
1.2.1.2. L'élastine	146
1.2.1.3. Le Collagène	147
— Répartition	147
— Morphologie	148
— Structure	148
— Nature des liaisons	148
— Biosynthèse et maturation	150
— Intérêt de l'étude de la maturation	150
1.2.2. La substance fondamentale	151
2. Notions de Rhéologie	152
2.1. Définitions	152
2.2. Modèles analogiques	155
2.3. Rhéologie des matériaux réels	159
2.4. Propriétés mécaniques de la peau	161
2.4.1. Rôle des composants de la peau dans ses propriétés mécaniques	165
2.4.1.1. Relation : structure de la peau propriétés mécaniques	166
2.4.1.2. Propriétés mécaniques de l'épiderme	167

3. Les méthodes	171
3.1. Méthodes à contrainte uniaxiale	171
3.2. Méthodes à contrainte multiaxiale	172
3.3. Méthodes par compression	173
3.4. Méthodes en torsion	173
3.5. Méthodes par vibration	174
4. Méthode utilisée	175
4.1. Appareillage	175
4.2. Matériau utilisé	177
4.3. Conditions opératoires	179
4.3.1. Prélèvement des peaux	179
4.3.2. Conservation	179
4.3.3. Découpe	179
4.3.4. Conditionnement	179
4.4. Mode opératoire	181
4.5. Calculs	181
4.6. Première expérimentation	184
4.6.1. Résultats et interprétation	184
4.6.2. Conclusion	187
4.7. Deuxième expérimentation	188
4.7.1. Résultats et interprétation	188
4.7.2. Conclusion	196
4.8. Troisième expérimentation	197
4.8.1. Résultats et interprétation	197
4.8.2. Conclusion	197
4.9. Quatrième expérimentation	201
4.9.1. Traitement statistique	201
4.9.2. Analyse du plan factoriel	203
4.9.3. Etude des corrélations	203
4.9.4. Interprétation	203
4.9.5. Conclusion	212
5. Analyse par diffraction aux Rayons X	214
5.1. But de la méthode	214
5.2. La méthode	214
5.3. Résultats	217
5.3.1. Degré d'orientation	217
5.3.2. Angle d'orientation	219
5.3.3. Degré de structuration	219
Discussion	223
CONCLUSIONS	225
ANNEXE	229
BIBLIOGRAPHIE	253



ERRATUM

Page 36 - ligne 12 :

- Les réactifs non spécifiques. Les plus utilisés sont :

.. Réactif à l'Anisaldéhyde :

Anisaldéhyde	0,5 ml
Acide sulfurique	1 ml
Acide acétique	50 ml

Page 192 à 195 :

Les courbes en trait plein représentent le côté traité.

Les courbes en pointillés représentent le côté témoin.

Pour chaque paramètre, les courbes à gauche représentent le sens parallèle à l'échine, les courbes à droite représentent le sens perpendiculaire à l'échine.

